

AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE QUIASMAS
EM MILHO (*Zea mays* L.) E SUAS IMPLICAÇÕES COM A
CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO PARA A PRODUÇÃO DE GRÃOS

MARIA SUELY PAGLIARINI
Bióloga

Orientadora: Dra. Margarida L.R. de Aguiar-Perecin

Tese apresentada à Escola Superior
de Agricultura "Luiz de Queiroz",
da Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor em
Agronomia. Área de Concentração:
Genética e Melhoramento de Plantas

PIRACICABA
ESTADO DE SÃO PAULO - BRASIL
MARÇO - 1989

P138a Pagliarini, Maria Suely
Avaliação da frequência de quismas em
milho (Zea mays L.) e suas implicações com
a capacidade de combinação para a produção de
grãos. Piracicaba, 1989.
190p. ilus.

Tese - ESALQ
Bibliografia

1. Milho - Capacidade de combinação. 2.
Milho - Citogenética. 3. Quisma em milho -
Frequência - Avaliação. I. Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiróz", Piracicaba,

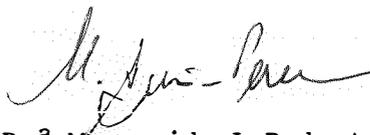
AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE QUIASMAS
EM MILHO (*Zea mays* L.) E SUAS IMPLICAÇÕES COM A
CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO PARA A PRODUÇÃO DE GRÃOS

MARIA SUELY PAGLIARINI

Aprovada em 30.05.1989

Comissão Julgadora:

| | |
|--|------------------------|
| Prof. ^a Dr. ^a Margarida L.R. de Aguiar-Perecin | ESALQ/USP |
| Prof. Dr. José Branco de Miranda Filho | ESALQ/USP |
| Prof. Dr. Gerhard Bandel | ESALQ/USP |
| Prof. ^a Dr. ^a Maria Neysa Stort | UNESP/Rio Claro |
| Dr. Mário Silva Campos | SEMENTES AGROCERES S/A |



Prof.^a Dr.^a Margarida L.R. de Aguiar-Perecin
Orientador

Ao Pai

Ao Filho

Ao Espírito Santo

GRATIDÃO

À Sarah,

minha filha

Ao Francisco,

meu esposo

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao t̄rmino deste trabalho agradeço a todas as pessoas que de forma direta ou indireta, contribuíram para a realização do mesmo. Porém, de forma especial agradeço:

À Dra. Margarida Lopes Rodrigues de Aguiar-Perecin pela orientação.

Ao Eng^o Agr^o Juan Fernando Aguilar Morán e ao Dr. José Branco de Miranda Filho pela concessão das linhagens analisadas.

À Sementes Agroceres S.A. e Sementes Germinal pela concessão de alguns híbridos analisados.

Ao Dr. Roberto Augusto de Almeida Torres pelo auxílio nas análises estatísticas.

À Universidade Estadual de Maringá pela oportunidade concedida para a realização deste curso.

SUMÁRIO

| | Página |
|--|-------------|
| LISTA DE TABELAS | <i>viii</i> |
| LISTA DE FIGURAS | <i>xii</i> |
| RESUMO | <i>xv</i> |
| ABSTRACT..... | <i>xvii</i> |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 3 |
| 2.1. Aspectos gerais sobre a formação de quiasmas | 3 |
| 2.1.1. Permuta genética e quiasmas: relação e importância | 3 |
| 2.1.2. Bases moleculares da permuta genética | 4 |
| 2.1.3. Localização e terminalização dos quiasmas | 7 |
| 2.2. Controle genético da frequência de quiasmas | 12 |
| 2.2.1. Frequência de quiasmas em espécies alógamas | 12 |
| 2.2.2. Controle genético da localização de quiasmas | 16 |
| 2.2.3. Considerações sobre cromossomos univalentes | 18 |
| 2.2.4. Depressão por endogamia e comportamento meiô- tico | 21 |
| 2.2.5. Considerações sobre capacidade de combinação | 22 |
| 2.3. Correlação entre frequência de quiasmas e outras características | 23 |
| 2.3.1. Frequência de quiasmas e adaptação | 23 |
| 2.3.2. Frequência de quiasmas e caracteres agrônô- micos | 26 |
| 2.4. Ocorrência de anormalidades meióticas | 29 |
| 2.5. Outros fatores que afetam a frequência de quiasmas | 31 |

| | |
|---|----|
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 34 |
| 3.1. Material | 34 |
| 3.1.1. Material utilizado para testar a relação entre frequência de quiasmas e capacidade de combinação | 34 |
| 3.1.2. Material utilizado para avaliação de possíveis influências ambientais sobre a frequência de quiasmas | 37 |
| 3.2. Métodos | 40 |
| 3.2.1. Preparação citológica dos microsporócitos e coleta de dados | 40 |
| 3.2.2. Análise estatística dos dados | 42 |
| 4. RESULTADOS | 46 |
| 4.1. Frequência de quiasmas em linhagens e testadores | 46 |
| 4.1.1. Frequência de quiasmas por microsporócito | 46 |
| 4.1.2. Frequência de quiasmas intersticiais | 51 |
| 4.1.3. Frequência de quiasmas terminais | 56 |
| 4.2. Correlação entre frequência de quiasmas intersticiais e frequência de quiasmas terminais | 60 |
| 4.3. Cromossomos univalentes | 64 |
| 4.3.1. Ocorrência de cromossomos univalentes | 64 |
| 4.3.2. Comportamento meiótico dos cromossomos univalentes | 65 |
| 4.3.3. Frequências de cromossomos univalentes e capacidade de combinação | 73 |
| 4.4. Anormalidades meióticas | 75 |
| 4.4.1. Quebras cromossômicas | 75 |
| 4.4.2. Fuso divergente | 77 |
| 4.4.3. Fusão celular | 82 |

| | |
|---|-----|
| 4.4.4. Assincronia na meiose | 89 |
| 4.5. Cromossomos B | 89 |
| 4.6. Análise da freqüência de quiasmas em genótipos com diferentes graus de heterozigose plantados em dife- rentes anos agrícolas | 91 |
| 5. DISCUSSÃO | 94 |
| 5.1. Freqüência de quiasmas em linhagens | 94 |
| 5.1.1. Freqüência de quiasmas por microsporócito | 94 |
| 5.1.2. Freqüência de quiasmas intersticiais | 103 |
| 5.1.3. Freqüência de quiasmas terminais | 106 |
| 5.1.4. Correlação entre freqüência de quiasmas in- tersticiais e freqüência de quiasmas termi- nais | 108 |
| 5.2. Freqüência de quiasmas nos testadores | 110 |
| 5.3. Cromossomos univalentes | 111 |
| 5.3.1. Freqüência de quiasmas e ocorrência de uni- valentes | 111 |
| 5.3.2. Comportamento meiótico dos cromossomos uni- valentes | 112 |
| 5.3.3. Freqüência de cromossomos univalentes e ca- pacidade de combinação | 117 |
| 5.4. Anormalidades meióticas | 122 |
| 5.4.1. Quebras cromossômicas | 112 |
| 5.4.2. Fuso divergente | 127 |
| 5.4.3. Fusão celular | 129 |
| 5.4.4. Assincronia na meiose | 134 |
| 5.5. Cromossomos B | 136 |
| 6. CONCLUSÕES | 138 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 141 |
| APÊNDICE | 165 |

LISTA DE TABELAS

| Tabela nº | | Página |
|-----------|--|--------|
| 1 | Grupo genotípico, designação do material, simbologia adotada e local de aquisição dos materiais utilizados para avaliar a estabilidade na frequência de quiasmas | 39 |
| 2 | Valores médios de temperatura, umidade relativa do ar, precipitação e insolação para as três épocas de coleta | 40 |
| 3 | Análise da variância da frequência de quiasmas por microsporócito em linhagens e testadores e os respectivos testes de Tukey | 166 |
| 4 | Análise da variância das variâncias dentro de plantas da frequência de quiasmas por microsporócito em linhagens e testadores | 168 |
| 5 | Análise da variância da frequência de quiasmas intersticiais em linhagens e testadores e os respectivos testes de Tukey | 169 |
| 6 | Análise da variância das variâncias dentro de plantas da frequência de quiasmas intersticiais em linhagens e testadores | 171 |
| 7 | Análise da variância da frequência de quiasmas terminais em linhagens e testadores e os respectivos testes de Tukey | 172 |

| Tabela nº | Página |
|-----------|---|
| 8 | Análise da variância das variâncias dentro de plantas da frequência de quiasmas terminais em linhagens e testadores 174 |
| 9 | Frequência média de quiasmas (\bar{X}) por microsporócito, coeficiente de variação dentro de plantas (CVD) e entre plantas (CVe) para as três épocas de plantio 175 |
| 10 | Análise da variância da frequência de quiasmas para as três épocas de plantio 176 |
| 11 | Análise da variância da frequência de quiasmas para a linhagem LF-1559 nas três épocas de plantio e o respectivo teste de Tukey 177 |
| 12 | Análise da variância da frequência de quiasmas para a linhagem LF-1584 nas três épocas de plantio 177 |
| 13 | Análise da variância da frequência de quiasmas para a linhagem LF-1562 nas três épocas de plantio e o respectivo teste de Tukey 178 |
| 14 | Análise da variância das variâncias dentro de plantas da frequência de quiasmas por microsporócito para as três épocas de plantio 179 |
| 15 | Coeficiente de correlação (r) entre frequência de quiasmas intersticiais e frequência de quiasmas terminais em linhagens e testadores 180 |
| 16 | Número de plantas e células com cromossomos univalentes nas linhagens e testadores 181 |

| Tabela nº | | Página |
|-----------|--|--------|
| 17 | Análise do comportamento meiótico dos cromossomos univalentes na linhagem LF-1320 | 182 |
| 18 | Análise do comportamento meiótico dos cromossomos univalentes na linhagem LF-1092 | 183 |
| 19 | Análise do comportamento meiótico dos cromossomos univalentes na linhagem LF-1284 | 184 |
| 20 | Análise do comportamento meiótico dos cromossomos univalentes na linhagem LD-1741 | 185 |
| 21 | Número de células com e sem cromossomos univalentes nas linhagens Flint com alta e baixa capacidade de combinação e teste de χ^2 de independência | 186 |
| 22 | Número de células com e sem cromossomos univalentes nas linhagens Dentado com alta e baixa capacidade de combinação e teste de χ^2 de independência | 186 |
| 23 | Tipo e porcentagem de anormalidades observadas em microsporócitos de uma planta da linhagem LD-1741 | 187 |
| 24 | Porcentagem de plantas com meiose assincrônica entre as linhagens e os testadores | 188 |
| 25 | Número de cromossomos B observado nas linhagens LF-1350 e LD-1715, frequência de quiasmas por microsporoócito e frequências de quiasmas intersticiais..... | 189 |

| | | |
|----|--|-----|
| 26 | Freqüência média de quiasmas por microsporócito, freqüência média de quiasmas intersticiais, percentagem de quiasmas intersticiais em relação aos quiasmas totais, número de células e número de plantas com cromossomos univalentes, anormalidades meióticas, assincronia na meiose e presença de cromossomos B nas linhagens | 190 |
|----|--|-----|

LISTA DE FIGURAS

| Figura nº | | Página |
|-----------|--|--------|
| 1 | Distribuição de frequência média de quiasmas por microsporócito, média (\bar{M}), erro padrão ($\sigma(\hat{m})$) e coeficiente de variação entre (CV_e) e dentro de plantas (CV_d) para as linhagens Flint | 49 |
| 2 | Distribuição da frequência média de quiasmas por microsporócito, média (\bar{M}), erro padrão ($\sigma(\hat{m})$) e coeficiente de variação entre (CV_e) e dentro (CV_d) de plantas para as linhagens Dentado e testadores | 50 |
| 3 | Microsporócito em diacinese mostrando quiasmas intersticiais e quiasmas terminais. a) Dois quiasmas intersticiais e dezessete quiasmas terminais. b) Cinco quiasmas intersticiais e dezoito quiasmas terminais | 52 |
| 4 | Distribuição da frequência média de quiasmas intersticiais, média (\bar{M}), erro padrão ($\sigma(\hat{m})$) e coeficiente de variação entre (CV_e) e dentro (CV_d) de plantas para as linhagens Flint | 54 |
| 5 | Distribuição da frequência média de quiasmas intersticiais, média (\bar{M}), erro padrão ($\sigma(\hat{m})$) e coeficiente de variação entre (CV_e) e dentro (CV_d) de plantas para as linhagens Dentado e testadores | 55 |
| 6 | Distribuição da frequência média de quiasmas terminais, média (\bar{M}), erro padrão ($\sigma(\hat{m})$) e coeficiente de variação entre (CV_e) e dentro (CV_d) de plantas para as linhagens Flint | 58 |

| | | |
|----|--|----|
| 7 | Distribuição da freqüência média de quiassmas terminais, média (\bar{M}), erro padrão ($\sigma(\hat{m})$) e coeficiente de variação entre (CV_e) e dentro (CV_d) de plantas para as linhagens Dentado e testadores | 59 |
| 8 | Distribuição da freqüência de quiassmas por microsporócito (T+I), freqüência de quiassmas terminais (T) e freqüência de quiassmas intersticiais (I) nas linhagens e testadores | 62 |
| 9 | Freqüência de quiassmas por microsporócito e freqüência de quiassmas intersticiais | 63 |
| 10 | Freqüência de quiassmas por microsporócito e número de células com univalentes | 66 |
| 11 | Freqüência de quiassmas intersticiais e número de células com univalentes | 67 |
| 12 | Comportamento dos cromossomos univalentes durante a meiose | 70 |
| 13 | Porcentagem de microsporócitos com meiose normal (N) e com anormalidades (A) nas linhagens LF-1320, LF-1092, LF-1284 e LD-1741 | 72 |
| 14 | Distribuição do número de células com cromossomos univalentes nas linhagens Dentado e Flint com alta e baixa capacidade de combinação | 74 |
| 15 | Microsporócitos da linhagem LD-1823 mostrando quebra cromossômica | 76 |

| Figura nº | | Página |
|-----------|---|--------|
| 16 | Microsporócitos com pontes e fragmentos na linhagem LD-1741 | 78 |
| 17 | Microsporócitos da linhagem LF-1320 mostrando fuso divergente | 81 |
| 18 | Microsporócitos da linhagem LD-1741 apresentando variações no número de cromossomos | 84 |
| 19 | Microsporócitos da linhagem LD-1741 apresentando fusão celular | 87 |
| 20 | Micrósporos da linhagem LD-1741 | 88 |
| 21 | Microsporócitos com cromossomos B | 90 |

AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE QUIASMAS
EM MILHO (*Zea mays* L.) E SUAS IMPLICAÇÕES COM A
CAPACIDADE DE COMBINAÇÃO PARA A PRODUÇÃO DE GRÃOS

Autora: Maria Suely Pagliarini

Orientadora: Prof^a Dr^a Margarida L.R. de Aguiar-Perecin

RESUMO

A capacidade de combinação para a produção de grãos de uma linhagem tem sido definida como uma função do número de alelos favoráveis para este caráter que ela apresenta. Por outro lado, sabe-se que qualquer irregularidade que ocorra durante o processo meiótico pode afetar a viabilidade dos esporos, comprometendo a fertilidade da planta. Considerando-se que o melhorista sempre tem procurado nas linhagens um caráter que expresse alta correlação com boa performance do híbrido, procurou-se avaliar linhagens previamente selecionadas para alta e baixa capacidade de combinação a fim de se verificar possíveis correlações entre baixa capacidade para produção de grãos e instabilidade meiótica. Para tal, analisaram-se 40 linhagens S₇ de milho, assim subdivididas: 10 linhagens Flint com baixa capacidade de combinação e 15 com alta capacidade de combinação; 10 linhagens Dentado com baixa capacidade de combinação e 5 com alta capacidade de combinação. A análise de frequência de quiasmas por célula foi feita na fase de diacinese em 10 plantas por linhagem e 20 células por planta. Considerou-se ainda a frequência de quiasmas intersticiais e terminais. As análises demonstraram que houve uma tendência da frequência de quiasmas ser menor nas linhagens com baixa capacidade de combi-

nação, tanto para as linhagens Dentado quanto para as Flint. Não se observou cor relação entre frequência de quiasmas terminais e intersticiais e capacidade de combinação. As linhagens com baixa capacidade de combinação mostraram, além de menor frequência de quiasmas, maior frequência de cromossomos univalentes, estando estes dois caracteres altamente correlacionados. Os cromossomos univalentes mostraram segregação irregular, acompanhada ou não por não-disjunção. A frequência de micronúcleos observada na telófase I foi muito inferior à esperada com base nas anormalidades detectadas nas fases anteriores, sugerindo que grande parte dos cromossomos que ascendem precoce ou tardiamente para os pólos é incluída nos núcleos. A segunda divisão foi regular, sugerindo que os micronúcleos formados na primeira divisão desaparecem nesta fase. Apesar das tétrades não apresentarem micrócitos ou micronúcleos, não se pode esperar que cada micrósporo seja portador de n cromossomos, pois falta de disjunção cromossômica foi observada, bem como desaparecimento dos micronúcleos formados na primeira divisão. Estes dois fatores devem contribuir, sem dúvida alguma, para a formação de micrósporos aneuplóides, cuja viabilidade e desempenho poderão ser afetados. Além da menor frequência de quiasmas e do maior número de cromossomos univalentes, as linhagens com baixa capacidade de combinação mostraram outros tipos de irregularidades meióticas, como: quebras cromossômicas, pontes e fragmentos, fusão celular, anormalidades de fuso e maior assincronia na meiose. Todas estas formas de irregularidade podem afetar o produto final da meiose. Os resultados aqui apresentados sugerem, portanto, que a capacidade de combinação, provavelmente, não deve ser unicamente uma função da frequência de alelos favoráveis para a produção de grãos, mas sim, uma associação de tais alelos com um processo meiótico regular que garanta a viabilidade total dos gametas formados.

CHIASMATA FREQUENCY EVALUATION IN MAIZE (*Zea mays* L.)
AND IMPLICATIONS WITH COMBINING ABILITY FOR GRAIN PRODUCTION

Author: Maria Suely Pagliarini

Adviser: Profa. Dra. Margarida L.R. de Aguiar - Perecin

ABSTRACT

The combining ability of an inbred line has been defined as a function of its favourable gene number. On the other hand, we know that irregularities that occur during the meiotic process can affect the spores viability affecting the plant fertility. In this work inbred lines previously selected for high and low combining ability were evaluated in order to investigate correlations between meiotic instability and low combining ability. For this 40 S7 inbred lines of maize with the following characteristics were analyzed: ten Flint inbred lines with low combining ability and fifteen with high combining ability; ten Dent inbred lines with low combining ability and five with high combining ability. The microsporocyte chiasmata frequency was scored in diakinesis using ten plants from each inbred line and twenty cells in each plant. The interstitial and terminal chiasmata frequency were also evaluated. Both Dent and Flint lines with low combining ability showed a tendency to have lower chiasmata frequency and higher univalent chromosomes frequency. The interstitial and terminal chiasmata frequency did not show correlation with combining ability. Univalent chromosomes presented irregular segregation in the spindle showing sometimes non-disjunction. The micronuclei frequency in telophase I was lower

than the expected one. This suggests that some chromosomes with early or delayed segregation were included in the nuclei. The second division was very regular, suggesting that the micronuclei originated in the first one disappeared in the second division. The tetrads did not show microcytes or micronuclei. One can not expect each microspore to carry n chromosomes, because non-disjunction and disappearance of micronuclei from the first division were observed. Both the factors must contribute to the formation of aneuploid microspores whose viability and performance might be affected. Besides the lower chiasmata frequency and higher univalent chromosomes number some inbred lines with low combining ability showed other types of meiotic irregularities: break points, bridges and fragments, cell fusion, divergent spindle and higher asynchrony in the meiosis. All these irregularities affect the meiotic products. The results presented here suggest that the combining ability can not probably be only a function of a favourable gene frequency for grain production, but an association of these genes with a meiotic regular process that assures the total viability spores.

1. INTRODUÇÃO

A variabilidade genética de uma espécie é, em grande parte, controlada pela recombinação de genes entre cromossomos homólogos. Evidências sugerem que os locais de ocorrência de crossing-over são, mais tarde, visíveis através da formação de quiasmas. Dessa forma, a contagem da frequência de quiasmas por microsporócito dá informações sobre o grau de recombinação entre genes ligados.

A frequência de quiasmas por microsporócito, avaliada em inúmeras espécies vegetais (REES & THOMPSON, 1958; DAYAL, 1977b; PAGLIARINI, 1980, LEIN & LELLEY, 1987) e animais (CHINICCI, 1971a,b) tem se mostrado estar sob o controle de um sistema poligênico. Dessa forma, diferentes frequências de quiasmas podem ser esperadas em linhagens originadas de uma mesma população alogâmica, após autofecundações sucessivas.

Os quiasmas, além de serem decorrentes de eventos de recombinação genética, desempenham também importante papel na manutenção da associação dos cromossomos homólogos até a metáfase I, a fim de permitir a ocorrência de perfeita disjunção cromossômica. Em trabalhos anteriores realizados em linhagens de milho (VILLAMIZAR, 1976; PAGLIARINI, 1980, 1983

e PAGLIARINI *et alii*, 1986a), observou-se que quando a frequência de quiasmas é baixa, surgem cromossomos univalentes. Tais cromossomos, geralmente, apresentam movimentação irregular no fuso de divisão. Sabe-se que qualquer irregularidade que ocorra durante o processo meiótico pode afetar a viabilidade dos gametas, comprometendo a fertilidade da planta.

Baseando-se neste fato, ou seja, que a fertilidade depende da regularidade do processo meiótico, PAGLIARINI (1983) e PAGLIARINI *et alii* (1986a) iniciaram um programa visando avaliar a frequência de quiasmas em linhagens endogâmicas de milho, selecionadas para alta e baixa capacidade de combinação. Os resultados demonstraram, em ambos os estudos, que as linhagens com baixa capacidade de combinação mostraram uma tendência em apresentar menor frequência de quiasmas e maior frequência de cromossomos univalentes. Estes resultados despertaram a atenção dos pesquisadores, pois a capacidade de combinação, até então, havia sido definida unicamente em termos de genética quantitativa. Surgiu, então, uma pergunta: - Será que a capacidade de combinação de uma linhagem é sempre afetada pela sua frequência de quiasmas e frequência de univalentes? Se assim for, a análise da meiose poderia ser utilizada na seleção de linhagens para capacidade de combinação pela estabilidade meiótica.

Para responder a esta questão, deu-se continuidade a esta linha de pesquisa analisando-se neste trabalho 40 linhagens S7 de milho, pertencentes a germoplasma Dentado e Flint, selecionadas para alta e baixa capacidade de combinação. A fim de verificar o quanto a frequência de quiasmas de uma linhagem pode ser influenciada pelas condições ambientais, foram analisados, paralelamente a este experimento, diferentes genótipos que diferiam no grau de heterozigose, plantados em três anos agrícolas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos gerais sobre a formação de quiasmas

2.1.1. Permuta genética e quiasmas: relação e importância

A variabilidade genética de uma população é resultante da ação de uma série de fatores geneticamente controlados e sujeitos à ação da seleção natural (para revisão, veja GRANT, 1958). Dentre estes fatores, destaca-se a permuta genética porque envolve a troca de cromatina entre cromossomos homólogos, promovendo recombinação intracromossômica.

Evidências acumuladas de inúmeros anos de pesquisas têm levado os citogeneticistas a aceitarem que a permuta genética que ocorre no paquíteno é, mais tarde, revelada citologicamente na forma de quiasmas. Estas evidências são dadas, segundo HENDERSON (1969), por: 1) comportamento de bivalentes heteromórficos na meiose; 2) ocorrência de trocas de cromátides, citologicamente detectáveis, acompanhada de permuta entre genes marcadores; 3) similaridade entre frequência de quiasmas e permuta gênica.

Algumas técnicas mais refinadas, tais como autorradiografia, utilizada por PEACOCK (1970) em espermatoócitos de gafanhoto e

BrDU-Giemsa, utilizada também em gafanhoto por TEASE & JONES (1978) e em camundongos por KANDA & KATO (1980), têm mostrado convincentemente que os quiasmas coincidem com os pontos de troca entre cromátides não-irmãs. Estes experimentos revelaram, mais uma vez, que a relação entre frequência de quiasmas e de permuta genética é tão estreita, conforme admitiu STEBBINS (1971), que a taxa de recombinação em uma população pode ser estimada pela frequência de quiasmas.

Além dessa correlação com a ocorrência de recombinação, é bem conhecida também a importância dos quiasmas quanto ao seu papel de manter os cromossomos homólogos associados até a metáfase I. Esta associação permite a ocorrência de disjunção cromossômica regular. A regularidade deste processo é muito importante, pois em inúmeros casos tem sido demonstrado que a fertilidade de um indivíduo depende da eficiência do processo meiótico.

2.1.2. Bases moleculares da permuta genética

A frequência e a distribuição dos locais de permutas genéticas parecem ser precisamente reguladas no núcleo profásico em meiose. Dentro de um dado núcleo, os locais de permuta parecem estar uniformemente distribuídos ao longo dos bivalentes, assim como dentro de um bivalente as permutas também parecem não ser distribuídas ao acaso (para revisão, veja MOENS, 1978).

Quando se fala em frequência e distribuição de quiasmas tem-se, obrigatoriamente, que se tecer alguns comentários sobre um fenômeno amplamente descrito na literatura que é a "interferência". Interferência

é o fenômeno em que um quiasma reduz a probabilidade de ocorrência de um segundo quiasma em sua vizinhança (SYBENGA, 1972).

Pelo descrito acima, a frequência de permuta genética entre dois genes é tratada como uma função da distância física entre eles. Isto implicaria que permutas genéticas seriam igualmente prováveis em qualquer ponto ao longo do cromossomo. A direta proporcionalidade entre distância física e frequência de permuta genética é uma simplificação que, embora usada, obscurece o fato de que a posição de uma permuta não é intencionalmente ao acaso. É altamente improvável que o local de uma permuta dependa unicamente de lesões casualizadas no DNA. O padrão de síntese de DNA durante a prófase da meiose é inteiramente consistente com o envolvimento de fatores distribuídos não ao acaso em posicionar os locais de ocorrência de permuta. Trabalhos desenvolvidos por HOTTA & STERN e inúmeros colaboradores têm ajudado enormemente a esclarecer alguns pontos do enigmático processo de recombinação gênica em eucariotos. Considerando que o paquíteno é a fase onde ocorre a permuta genética, HOTTA & STERN (1974) analisaram o comportamento de sedimentação do DNA paquitênico intacto e desnaturado e verificaram que o DNA desnaturado mostrou um componente característico que só foi observado em células quiasmáticas. Este DNA foi denominado de "DNA-P" (DNA paquitênico) e seu metabolismo parece ser totalmente especializado para a atividade de reparo que ocorre durante a permuta. Estudos em organismos filogeneticamente distantes como lírio e rato, mostraram o mesmo comportamento para o DNA-P. Isto levou HOTTA *et alii* (1977) a considerarem que o mecanismo de permuta deve ser universal. Esta possível universalidade deste processo foi outra vez evidenciada por HOTTA *et*

alli (1985) ao descobrirem uma proteína "m-rec" (proteína envolvida na recombinação em células meióticas), novamente em lírio e rato. Esta proteína é semelhante às proteínas rec-A envolvidas no processo de recombinação em eucariotos inferiores.

HOTTA & STERN (1984) analisando os segmentos de DNA-P chegaram à conclusão de que cada segmento consiste de três regiões. A síntese de reparo nestes segmentos ocorre somente nas duas regiões das extremidades que têm homologia com o PsnRNA, molécula que facilita a ação da endonuclease para realizar os cortes durante a meiose (STERN & HOTTA, 1981). Estes sítios de quebra-reparo que têm homologia com o PsnRNA foram denominados de PsnDNA. As seqüências do PsnDNA são formadas por mais ou menos 150-300 pares de bases que ficam localizadas nas extremidades de cada unidade que apresenta de 800 a 3.000 pares de bases. Uma caracterização mais detalhada destes regiões de DNA-P que sofrem reparos foi dada mais recentemente por STUBBS & STERN (1986). Estes segmentos de DNA-P não estão uniformemente distribuídos dentro do genoma, sendo que o espaço entre eles pode variar de 30.000 a 350.000 pares de bases. Assim, regiões relativamente longas do DNA não passam por permuta genética porque não podem sofrer a ação da endonuclease no paquíteno. Além de regiões relativamente extensas de DNA não serem passíveis à ação da endonuclease, há ainda uma grande disparidade entre o número de regiões cortadas e o número de permuta genética. Segundo HOTTA & STERN (1977), em um meiócito de *Lilium* a razão de cortes formados e de cortes utilizados em permutas é de 1:10.000.

2.1.3. Localização e terminalização dos quiasmas

Quando se assume que a permuta genética que ocorre na meiose é uma grande fonte de variabilidade, tem-se que admitir que a taxa de recombinação genética promovida por este evento depende não somente da frequência do mesmo, mas também do local onde a permuta ocorre.

De acordo com sua posição dentro do bivalente, os quiasmas podem ser classificados em proximais, intersticiais e terminais. Contudo, dado às dificuldades de visualização dos centrômeros nos bivalentes em grande parte dos organismos, a maioria das pesquisas tem classificado os quiasmas apenas em terminais e intersticiais, estando nesta última classe incluídos os intersticiais e proximais.

Segundo SYBENGA (1972), quando os quiasmas são estritamente terminais, o organismo, apesar da alta frequência de quiasmas, está efetivamente livre de recombinação. Isto tem uma consequência genética marcante, pois certas regiões cromossômicas que contêm genes que conferem certo valor adaptativo são mantidas sempre em equilíbrio de ligação. Dentro desse mesmo contexto, ZARCHI *et alii* (1972) e HILLEL *et alii* (1973) discutem que os quiasmas terminais teriam apenas a função física de manter o bivalente para que haja uma perfeita segregação de cromossomos homólogos, enquanto que os quiasmas intersticiais seriam efetivos em recombinação genética.

Dessa forma, a partir das considerações acima, comparações da posição dos quiasmas ao longo do bivalente em diferentes genótipos podem dar informações interessantes sobre o grau de recombinação em cada um deles. Contudo, quando se avalia a localização dos quiasmas, depara-se com um problema amplamente discutido na literatura que é o fenômeno da terminalização.

A terminalização dos quiasmas foi definida por DARLINGTON (1929) como o movimento dos quiasmas em direção às extremidades do cromossomo. Este fenômeno se iniciaria no paquíteno e terminaria na metáfase I. Este princípio foi baseado no fato de que a existência de quiasmas aparentemente terminais em muitos organismos foi tomada como prova de que os quiasmas estão aptos a se moverem (terminalizarem-se) de suas posições originais para ocuparem posições terminais no bivalente. Esta hipótese foi quase que universalmente aceita por mais de quarenta anos. Nos últimos anos, contudo, uma grande polêmica tem sido criada em torno deste assunto. Evidências experimentais utilizando técnicas que permitem estudar o movimento dos quiasmas têm sido acumuladas contra a ocorrência de terminalização em alguns organismos. Em outros organismos, entretanto, tais técnicas têm demonstrado a ocorrência de terminalização. Tão grandes são as controvérsias neste campo, que, hoje, ao se deparar com um quiasma terminal, o pesquisador pode indagar se: 1) tal quiasma teria se originado nas porções terminais do cromossomo, ou seja, teria sido sempre terminal; 2) seria resultante de terminalização, dentro do conceito de DARLINGTON (1929); 3) seria uma pseudo-terminalização, de acordo com o conceito de JONES (1978); 4) seria apenas uma associação terminal não quiasmática, denominada

por IMAI & MORIWAKI (1982) de associações "end-to-end". Os trabalhos relacionados a seguir darão uma idéia de como e em quais organismos a terminalização tem sido estudada.

A metodologia do bandamento-C e, principalmente, a técnica de coloração por BrDU têm permitido estudar a terminalização de quiasmas, pois esta última mostra, convincentemente, que os quiasmas coincidem com os pontos de troca entre cromátides não-irmãs. A técnica de coloração por BrDU-Giemsa foi usada, por exemplo, em espermatócitos de *Locusta migratoria* (TEASE & JONES, 1978) e em camundongos (KANDA & KATO, 1980). Em ambos os casos obtiveram-se evidências de que não há terminalização de quiasmas. Utilizando a técnica de bandamento-C, LOIDL (1979) em *Allium flavum* e IMAI & MORIWAKI (1982) em camundongos, também demonstraram ausência de terminalização de quiasmas. A falta de terminalização de quiasmas em camundongos foi ainda demonstrada por MAUDLIN & EVANS (1980) utilizando coloração convencional e medidas da distância entre os quiasmas. Assim, em camundongo, com qualquer que fosse a técnica utilizada, comprovou-se que não há terminalização de quiasmas.

Por outro lado, o trabalho realizado em milho por MAGUIRE (1978), utilizando plantas homozigóticas para o gene dessinápico *dy* e heterozigóticas para um knob, com formação de complexo sinaptonêmico normal, revelou que a formação de univalentes na diacinese apresentando uma cromátide com knob e outra sem knob, foi devida à ocorrência de permuta entre o centrômero e o knob após o quiasma ter sofrido terminalização. Outra prova inequívoca de terminalização de quiasmas em milho foi novamente dada por MAGUIRE (1979). Em centeio, REES (1955) também observou a ocorrência

de terminalização, que segundo JONES (1978) podem ser pseudo-terminalizações causadas por forças centroméricas, que tendem a deslocar os quiasmas em direção aos telômeros. A ocorrência de terminalização em centeio não foi confirmada por ORELLANA & GIRALDEZ (1981) e LEIN & LELLEY (1987).

A terminalização de quiasmas também tem sido descrita em animais. VILARDI (1984) ao analisar *Staurorhectus longicornis* observou um movimento contínuo dos quiasmas desde do diplôteno até a metáfase I. No entanto, em *Dichroplus elongatus* a terminalização ocorreu somente na fase de diplôteno (VILARDI, 1985).

Quando se estuda terminalização de quiasmas, um aspecto tem chamado a atenção. Trata-se das associações terminais que até há algum tempo eram consideradas como quiasmas originalmente terminais ou quiasmas terminais resultantes do processo de terminalização. Atualmente, alguns estudos têm ajudado a esclarecer este aspecto. IMAI & MORIWAKI (1982) ao estudar estas associações em camundongos verificaram que elas não resultam de terminalização. Tais associações dissociam-se durante a prófase, enquanto os quiasmas verdadeiros permanecem em suas posições originais. Em centeio (CERMEÑO *et alii*, 1984) e em *Cryptobothrus chrysophorus* (JOHN & KING, 1985) as associações terminais também foram observadas serem não quiasmáticas. Já em *Locusta migratoria*, JONES & TEASE (1984) demonstraram que as associações terminais são quiasmas verdadeiros, originados nas extremidades dos cromossomos. A natureza destas associações terminais é ainda desconhecida. Algumas hipóteses especulativas sobre como tais associações poderiam ser mantidas são apresentadas por EGEL (1979) e CERMEÑO *et alii* (1984).

Atualmente, uma técnica que colore o "esqueleto protéico" do cromossomo que se forma durante a sua condensação, pela afinidade que o nitrato de prata tem por proteínas ácidas não histônicas tem mostrado resultados interessantíssimos no campo dos estudos sobre quiasmas. Esta técnica desenvolvida por RUFAS *et alii* (1982) está sendo muito empregada em gafanhotos. Tal técnica, altamente reproduzível, tem uma resolução para analisar configurações quiasmáticas, superior a todas as outras técnicas descritas anteriormente. Permite, por exemplo, distinguir: 1) quiasmas intersticiais; 2) quiasmas terminais ou contatos entre eixos homólogos resultantes de associações quiasmáticas terminalizadas; 3) configurações que não mostram contato entre os esqueletos protéicos e que são interpretadas como associações terminais aquiasmáticas. Dois outros aspectos importantíssimos desta técnica são: 1) visualizar quiasmas ocultos, ou seja, não identificáveis por coloração convencional de orceína; 2) identificar eventos de interferência quando dois quiasmas ocorrem muito próximos e não são visíveis em preparações convencionais.

Esta técnica usada em *Chorthippus jucundus* por RUFAS *et alii* (1983) e SANTOS *et alii* (1987) revelou ausência de terminalização nesta espécie e que as associações terminais são quiasmas verdadeiros (RUFAS *et alii*, 1988).

Esta técnica tem revelado também que enquanto os cromossomos homólogos estão contatados através de quiasmas, a cromatina parece não estar organizada radialmente ao redor do esqueleto protéico que, nesta fase, seria periférico à cromatina das cromátides irmãs. Segundo RUFAS *et alii* (1987), estas modificações da estrutura organizacional do cromossomo

durante o processo meiótico mostram que o esqueleto protéico das cromátides podem ter um papel importante no estado final dos quiasmas.

2.2. Controle genético da frequência de quiasmas

2.2.1. Frequência de quiasmas em espécies alógamas

Foram os estudos de autofecundação em espécies alógamas, especialmente em centeio, que forneceram grande parte das informações hoje existentes sobre a natureza do controle genético da formação de quiasmas.

Estes estudos tiveram início com LAMM (1936), ao demonstrar que linhagens endogâmicas apresentavam sempre uma frequência de quiasmas menor e mais variável que as populações de onde provieram. REES (1955), dando início a um extenso programa que visava esclarecer o controle genético da formação de quiasmas em centeio, encontrou os mesmos resultados descritos por LAMM para linhagens autofecundadas. Estes dois autores admitiram que esta variabilidade na frequência de quiasmas entre linhagens de mesma origem deveria refletir segregação de genes envolvidos na formação de quiasmas. Parecia, portanto, ser de natureza quantitativa o controle genético da formação de quiasmas. Admitiram, também, que genes maiores poderiam estar envolvidos no pareamento cromossômico. A esta mesma conclusão também chegou PARKER (1975), em *Hypochoeris radicata*, mostrando que existem genes que afetam a formação de quiasmas em apenas um cromossomo, enquanto outros afetam todo o complemento cromossômico.

Dando continuidade aos estudos do controle genotípico da formação de quiasmas em centeio, REES & THOMPSON (1956) cruzaram quatro

linhagens em dialélico. Verificaram que os híbridos exibiram heterose para frequência de quiasmas, a qual foi explicada como devida, pelo menos em parte, a interações não alélicas. Ao compararem tais híbridos com suas respectivas famílias F_2 , REES & THOMPSON (1958) observaram que a frequência média de quiasmas nas famílias F_2 foi sempre menor que nos híbridos correspondentes, apresentando distribuição contínua. Este programa foi conduzido até a geração F_5 . REES (1957) observou diferenças significativas na frequência média de quiasmas entre famílias F_3 , F_4 e F_5 . Cada família apresentou significativamente menor número de quiasmas que aquela de onde proveio. O autor inferiu que a diminuição na frequência de quiasmas, após gerações sucessivas de autofecundação foi devida à diminuição da frequência de heterozigotos. O comportamento observado foi, portanto, bastante semelhante ao de um sistema poligênico, inclusive, pelo aspecto da natureza contínua da distribuição da frequência de quiasmas nas famílias F_2 .

Dados comparáveis aos de REES e colaboradores, foram novamente descritos em centeio por LELLEY (1978), GIRALDEZ & LACADENA (1978) e LEIN & LELLEY (1987) e também em *Hordeum* (GALE & REES, 1970), milho (PANTULU & MANGA, 1972) e rabanete (DAYAL, 1977a,b). Em todos esses casos os resultados obtidos sugerem que a frequência de quiasmas esteja sob controle poligênico. Este mesmo tipo de controle genético para frequência de quiasmas também parece operar em *Lolium perenne* (KARP & JONES, 1982) e em *Drosophila* (CHINNICI, 1971a,b).

Em milho, até a década de 70, eram poucos os trabalhos encontrados na literatura, comparáveis aos trabalhos até então realizados em centeio. Destacavam-se os trabalhos de ZECEVIC (1960, 1962), comparando

linhagens autofecundadas por três gerações, onde se observou redução na frequência de quiasmas à medida que aumentava o grau de endogamia.

Estudos iniciados na década de 70, no Instituto de Genética, ESALQ/USP - Piracicaba, SP, têm contribuído para a elucidação do controle genético da formação de quiasmas nesta espécie. Num estudo a fim de analisar linhagens autofecundadas e suas respectivas populações originais (VILLAMIZAR, 1976 e VILLAMIZAR & AGUIAR, 1976), mostrou-se que em vários aspectos os resultados foram comparáveis aos descritos para outras espécies. Compararam-se seis variedades comerciais com duas linhagens extraídas de cada uma delas e com diversos graus de endogamia. Constatou-se que a frequência de quiasmas das linhagens foi sempre menor que a das respectivas populações originais. Os resultados sugerem que em decorrência de autofecundações sucessivas, ocorreu segregação de genes responsáveis pela formação de quiasmas. Verificou-se que nem sempre autofecundações sucessivas foram suficientes para provocar grandes reduções na frequência de quiasmas. Houve casos em que, apesar de quatorze gerações de autofecundação, a frequência de quiasmas foi alta e, em contraste, uma linhagem com apenas duas gerações de autofecundação apresentou drástica redução na frequência de quiasmas. Baixa frequência de quiasmas esteve correlacionada com alta frequência de cromossomos univalentes.

A análise de seis linhagens endogâmicas de milho de origem racial e comercial, quatro híbridos resultantes de alguns cruzamentos entre estas linhagens e respectivas gerações F_2 , mostrou que a frequência de quiasmas nas linhagens e gerações F_2 foi sempre menor que a dos respectivos híbridos em cada um dos quatro experimentos realizados (PAGLIARINI &

AGUIAR-PERECIN, 1979; PAGLIARINI, 1980). Nos híbridos a heterose para frequência de quiasmas variou de 5,49% a 10,64% em relação à média dos pais. Considerando-se que todas as plantas foram cultivadas sob as mesmas condições ambientais, essas diferenças sugerem que sua origem é de ordem predominantemente genética. As gerações F_2 sempre mostraram uma distribuição contínua para frequência de quiasmas, mostrando, inclusive, valores transgressivos em relação aos dos pais e que podem ser interpretados como decorrentes de recombinação gênica. Estes resultados são consistentes com um modelo de herança poligênica. Em análise de cruzamento dialélico entre linhagens endogâmicas, utilizando-se a metodologia de HAYMAN (1954), concluiu-se que os genes ligados ao controle da formação de quiasmas apresentam, em média, dominância completa (PAGLIARINI *et alii*, 1986b).

Quando se compara a frequência de quiasmas em linhagens endogâmicas, híbridos e gerações segregantes, dois aspectos chamam a atenção e merecem consideração. Trata-se da variância da frequência de quiasmas entre células dentro de plantas e da variância da frequência de quiasmas entre plantas dentro de genótipo.

Tem-se observado que os genótipos homozigóticos mostram uma tendência em apresentar maior variação na frequência de quiasmas entre células dentro de planta que os heterozigóticos (REES & THOMPSON, 1956, 1958; VILLAMIZAR & AGUIAR, 1976; PAGLIARINI & AGUIAR-PERECIN, 1979; PAGLIARINI, 1980; AGUIAR-PERECIN *et alii*, 1984b). Dentre os genótipos homozigóticos, tem-se observado, também, que existem alguns que são muito mais instáveis que outros. Estes resultados parecem indicar que os fatores que

causam variação na frequência de quiasmas afetam mais os genótipos homozigóticos que os heterozigóticos.

Com relação à variação na frequência de quiasmas entre plantas dentro de genótipo, tem-se observado que o comportamento das linhagens é idêntico ao observado para a variação dentro de plantas, isto é, existe uma tendência das linhagens serem menos estáveis que os heterozigotos (REES & THOMPSON, 1956; PANTULU & MANGA, 1972; VILLAMIZAR, 1976; VILLAMIZAR & AGUIAR, 1976; DAYAL, 1977a; PAGLIARINI & AGUIAR-PERECIN, 1979; PAGLIARINI, 1980; PAGLIARINI *et alii*, 1986b; LEIN & LELLEY, 1987).

2.2.2. Controle genético da localização de quiasmas

Quando se considera a frequência de quiasmas como um indicador do grau de recombinação, medidas separadas devem ser feitas para o número de quiasmas por microsporócito e o número de quiasmas intersticiais. Atualmente, tem sido dada muita ênfase a este aspecto e alguns estudos têm revelado resultados interessantes, mostrando que o controle genético para frequência de quiasmas por microsporócito é independente do controle genético para quiasmas intersticiais.

JONES (1967) ao estudar as plantas parentais, híbridos e geração F_2 resultantes do cruzamento entre dois genótipos de centeio contrastantes para a localização dos quiasmas, um possuindo padrão normal e regular de distribuição (quiasmas distais) e outro, identificado por JONES

& REES (1964), mostrando um padrão anormal e assimétrico de distribuição de quiasmas, concluiu que a distribuição de quiasmas no genótipo anormal foi devida a uma alteração no processo que governa a distribuição de quiasmas em genótipos normais. Com base nos resultados obtidos propôs que dois sistemas genéticos independentes e fundamentalmente diferentes estariam envolvidos na formação de quiasmas em centeio. Um deles daria condições para a formação de quiasmas e o outro controlaria a distribuição de quiasmas ao longo do bivalente. O tipo de segregação observado em F_2 não se encaixou em uma herança monogênica, sugerindo-se que o controle da distribuição de quiasmas tem base genética complexa. Tal controle genético foi considerado como sendo poligênico por LEIN & LELLEY (1987).

Outro trabalho interessante sobre a distribuição dos quiasmas foi realizado em *Lolium perenne* (KARP & JONES, 1983). Foram analisados quatro grupos de famílias de progênies S_5 . Observou-se diferença altamente significativa entre todos os grupos, o que não foi observado entre as famílias dentro de um mesmo grupo, exceto para um deles. Verificou-se que o padrão de distribuição de quiasmas nos finais do cromossomo é alterado, sendo perdido progressivamente com a endogamia e novos padrões com quiasmas proximais são encontrados. Observou-se que a variação é contínua e tem origem a partir de diferenças genotípicas entre as diferentes plantas parentais. Os autores consideraram que esta alteração no padrão de localização dos quiasmas é devido a um desbalanço genético causado pela mudança forçada de um sistema genético heterozigótico para um sistema de autofecundação e de progressiva homoziguidade. Um controle poligênico para este caráter foi sugerido.

2.2.3. Considerações sobre cromossomos univalentes

No processo meiótico, eventos ordenados como pareamento, recombinação, formação de quiasmas e disjunção cromossômica, culminam com a redução do número de cromossomos nos gametas. Todos estes eventos e outros que ocorrem durante a meiose, estão sob controle genético. Como tal, são mutáveis e isto tem sido evidenciado em inúmeras plantas (para revisão, veja GOTTSCHALK & KAUL, 1974; KODURU & RAO, 1981).

Os trabalhos mencionados em ítem anterior mostraram que plantas alógamas, quando autofecundadas, podem perder o grau de heterozigose responsável pela manutenção de um número de quiasmas necessários para assegurar a segregação normal dos cromossomos. Em decorrência do baixo número de quiasmas surgem cromossomos univalentes.

É de grande interesse considerar a frequência e o comportamento de univalentes nas populações autofecundadas, pois alguns trabalhos têm demonstrado correlação negativa entre univalentes e fertilidade (MÜNTZING & AKDIK, 1948; MORAES-FERNANDES, 1982; MORAES-FERNANDES *et alii*, 1984; SMITH & MURPHY, 1986). Admite-se que esta correlação entre univalentes e fertilidade ocorre porque os cromossomos univalentes não passam por disjunção regular na meiose. Como consequência da segregação irregular, são formados micrôsporos com um número não balanceado de cromossomos, resultando em aborto do pólen.

O comportamento dos univalentes, revisado por KODURU & RAO (1981), analisado em muitas espécies vegetais, é sumarizado a seguir. Na metáfase I, geralmente, os univalentes têm orientação equatorial defectiva, podendo ter ascensão precoce. A distribuição dos univalentes no fuso

parece depender do tempo de sua formação. Na anáfase I o comportamento dos univalentes parece variar de acordo com a espécie. Na maioria dos casos, os univalentes não ficam situados no plano equatorial, movendo-se precocemente para os pólos. Em alguns casos, os univalentes sofrem divisão equacional das duas cromátides na anáfase I. O comportamento dos univalentes na anáfase I também depende do tempo em que eles surgiram. Apesar da orientação irregular dos cromossomos no fuso, a maioria dos univalentes apresentam distribuição bipolar. Na telófase I, independentemente do padrão de distribuição dos cromossomos na anáfase I aqueles que alcançarem os pólos em tempo hábil, farão parte do núcleo da díade e os retardatários formarão micronúcleos. A segunda divisão, quer onde tenha sido analisada, foi sempre mais regular que a primeira divisão. Como resultado das anormalidades ocorridas, no final da meiose tétrades anormais podem ser observadas. Contudo, em alguns casos, formação de tétrades normais foi descrita.

Em milho, vários estudos têm procurado analisar o comportamento dos cromossomos univalentes oriundos de plantas trissômicas (McCLINTOCK & HILL, 1931; EINSET, 1943; MAGUIRE, 1977), monossômicas (FISCHER & EINSET, 1940; WEBER, 1980) e portadoras de genes assinápticos e dessinápticos (MAGUIRE, 1977). Comparando-se os resultados obtidos nestes estudos verificou-se que o comportamento dos univalentes foi muito variável e pareceu depender de uma série de fatores.

Como descrito anteriormente, KODURU & RAO (1981) ao revisarem o comportamento meiótico de inúmeras espécies verificaram que as anormalidades que ocorrem durante a meiose podem levar à formação de quartetos de esporos anormais. A porcentagem de quartetos de esporos normais, definida

por LOVE (1949) como "índice meiótico", tem sido usada como um indicador da regularidade meiótica. Como a análise de todo o processo meiótico é de morada, muitos pesquisadores têm usado o índice meiótico como uma medida da estabilidade meiótica.

A avaliação do índice meiótico é de grande interesse em certos programas de melhoramento, pois tem-se admitido, em vários tipos de cereais, que a instabilidade meiótica pode levar à decadência da cultivar. LOVE (1949) coloca que o uso de material geneticamente instável em cruzamentos pode comprometer a eficiência, a uniformidade e a pureza da futura cultivar. BAEZINGER & KNOWLES (1969) consideram ser essencial a existência de um programa citológico contínuo operando ao lado dos projetos de melhoramento.

Obviamente, se ocorrem irregularidades durante a meiose e estas irregularidades culminam com a formação de quartetos de micrôsporos irregulares, é de se esperar que plantas com alta taxa de irregularidades apresentem problemas de fertilidade. Nesse particular, os trabalhos de POWERS (1932), MYERS & HILL (1943), MÜNTZING & AKDIK (1948), BREMER & BREMER-REINDERS (1954), BAEZINGER & KNOWLES (1969), LA FLEUR & JALAL (1972), DEWALD & JALAL (1974), DEL DUCA (1976), FALCÃO *et alii* (1981), MORAES-FERNANDES (1982), MORAES-FERNANDES *et alii* (1984) e SMITH & MURPHY (1986) têm demonstrado que a fertilidade em diversas espécies é afetada por irregularidades meióticas. Entretanto, não foi obtida correlação entre fertilidade e distúrbios citológicos em trabalhos com *Dactylis glomerata* (WEISS *et alii*, 1951), *Bromus* (HILL & CARNAHAN, 1963) e triticales (MERKER, 1971; SISODIA *et alii*, 1970); HASAM & LARTER, 1973). Isto indica que outros fatores, além da estabilidade citológica, devem afetar a fertilidade.

2.2.4. Depressão por endogamia e comportamento meiótico

HALLAUER & MIRANDA FILHO (1981) descrevem que, embora um imenso número de autofecundações tenha sido feito em milho, estimativas de depressão por endogamia para diferentes caracteres são, surpreendentemente, poucas. Desde os primeiros estudos realizados em milho, que datam de 1905, os efeitos da endogamia são óbvios: 1) o vigor e a produtividade são reduzidos e os caracteres tornam-se fixados; 2) as diferenças entre as linhagens aumentam, enquanto a variabilidade dentro das linhagens decresce. Estes autores dão uma boa revisão sobre os efeitos da endogamia para muitos caracteres em milho. A depressão por endogamia também tem sido avaliada por diversos pesquisadores brasileiros em inúmeras populações de diferentes germoplasmas (para revisão, veja LIMA *et alii*, 1984).

Muitos trabalhos têm mostrado que o decréscimo de produção em linhagens endogâmicas pode ser tão drástico que limita sua utilização nos programas de melhoramento. Grande parte das linhagens produzidas são de péssima qualidade e não são utilizadas. HALLAUER & MIRANDA FILHO (1981) calculam que 0,01% pode ser uma boa estimativa para o número de linhagens utilizáveis na produção de híbridos. O método mais direto e rápido que tem sido usado para se avaliar a depressão por endogamia é a comparação entre o desempenho das linhagens S_1 e a população parental.

Os efeitos da endogamia sempre foram interpretados com base na genética Mendeliana, onde há fixação de alelos e aumento de homozigose. Estudos relacionando a depressão por endogamia com caracteres citológicos são raros. Um trabalho muito bem elaborado, a fim de estudar o efeito da regularidade da microsporogênese sobre a depressão por endogamia, foi

realizado em alfafa por SMITH & MURPHY (1986). A magnitude das correlações observadas entre fertilidade e irregularidades meiôticas sugeriu que muitos outros fatores podem afetar negativamente a fertilidade das plantas endogâmicas. Contudo, os dados indicaram que, pelo menos uma porção da depressão em fertilidade pôde ser atribuída a irregularidades meiôticas.

2.2.5. Considerações sobre capacidade de combinação

A capacidade de combinação sempre foi definida com base na genética quantitativa, sendo considerada uma função direta da diferença de freqüências alélicas ($p_i - t$), sendo p_i a freqüência de um alelo qualquer num determinado material e t a freqüência alélica média no testador. Assim, materiais ricos em alelos favoráveis em relação a t terão alta capacidade de combinação, ou seja, materiais onde $p_i > t$. A capacidade de combinação depende também do testador e do tipo de ação gênica.

Enfoques de capacidade de combinação tentando relacioná-la com caracteres citológicos são raros. Alguns trabalhos têm correlacionado capacidade de combinação com knobs (MOHAMED & SHOEIB, 1965; RAKHA *et alii*, 1979; CHUGHTAI & STEFFENSEN, 1987). Em geral, tem-se observado que a heterozigosidade/homozigosidade dos knobs desempenha um papel importante na capacidade de combinação e heterose. As melhores capacidades de combinação foram observadas entre as linhagens sem knobs e linhagens com knobs, onde todos os knobs estão em condição heterozigótica. MOHAMED & SHOEIB (1965) consideraram que se estudos adicionais confirmassem estas conclusões, o melhorista poderia selecionar suas linhagens antes que elas atingissem homozigose completa, meramente analisando o estágio de paquíteno e contando

o número de knobs. Segundo os pesquisadores, isto traria considerável redução de tempo e gastos nos programas de melhoramento.

Seleção de linhagens para capacidade de combinação a partir do conhecimento do comportamento meiótico das mesmas parece não ter sido realizada em nenhuma espécie até o momento. Tal procedimento seria plenamente justificável, tendo-se em vista que o comportamento meiótico influencia enormemente no grau de fertilidade, como descrito anteriormente.

Em milho, a capacidade de combinação tem sido correlacionada com frequência de quiasmas por PAGLIARINI (1983) e PAGLIARINI *et alii* (1986a). Em ambos os trabalhos verificou-se que as linhagens com baixa capacidade de combinação mostram uma tendência em apresentar menor frequência de quiasmas e maior número de plantas com cromossomos univalentes. Embora ainda não comprovado, supôs-se que os cromossomos univalentes, que muitas vezes não têm disjunção regular, possam contribuir para a redução de fertilidade, afetando assim a capacidade de combinação.

2.3. Correlação entre frequência de quiasmas e outras características

2.3.1. Frequência de quiasmas e adaptação

WHITEHOUSE *et alii* (1981) colocam que muitos estudos têm sido realizados a fim de se entender o controle da formação de quiasmas, mas muito pouco se sabe sobre o significado da variação na frequência de quiasmas em populações naturais. MAYNARD-SMITH (1977) analisando o papel adaptativo e as vantagens evolucionárias da recombinação também chamou a atenção para esta deficiência.

Numerosas formas de variação na freqüência e localização de quiasmas têm sido descritas em plantas e animais, incluindo variação inter populacional (REES & DALE, 1974; PRICE, 1974; WHITEHOUSE *et alii*, 1981) e intrapopulacional (PRICE & BANTOCK, 1975; WHITEHOUSE *et alii*, 1981). O significado genético destas variações são ainda desconhecidos, mas os autores sempre sugerem algum papel evolucionário.

SHAW (1971, 1974) mostrou que a freqüência de quiasmas é altamente sensível a modificações ambientais e isto poderia ter um valor adaptativo especialmente elevado em alguns organismos. Dentro deste contexto, KING & HAYMAN (1978) estudando o sistema meiótico de lagartos (*Phyllodactylus marmoratus*) observaram que a freqüência de quiasmas totais e freqüência de quiasmas intersticiais variaram ciclicamente durante o ano. Esta variação foi consistente durante vários anos de observação. Verificou-se que todos os anos, na época do inverno, a freqüência de quiasmas era maior e estes eram mais intersticiais. Estudos reprodutivos sugeriram que somente os gametas com uma maior freqüência de quiasmas intersticiais seriam usados na fertilização. Resultados análogos foram encontrados em outro gênero de lagartos (*Podarcis sicula*) por COBROR *et alii* (1986). Em ambos os casos, sugeriu-se que a liberação de variabilidade causada pelo aumento de quiasmas intersticiais promove um alto grau de flexibilidade genética para estas espécies que vivem em ambientes extremos. Resultados contrastantes a estes foram observados por SHARP & HAYMAN (1985) em *Trichosurus vulpecula* (Marsupialia:Mammalia) onde a variação na freqüência de quiasmas analisada durante dois anos não mostrou nenhuma associação com condições climáticas ou idade do indivíduo.

Ao avaliarem a frequência de quiasmas em populações de *Triticum longissimum* (autógama) e *T. speltoides* (alógama), ZARCHI *et alii* (1972) verificaram que a diferença na frequência de quiasmas entre as duas espécies foi pequena, mas a diferença na frequência de quiasmas intersticiais entre elas foi grande. *T. longissimum* (autógama) apresentou maior frequência de quiasmas intersticiais, que foi explicada como uma forma para a população encontrar um grau ótimo de recombinação efetiva. Ao avaliarem o interrelacionamento entre frequência de quiasmas e sistema de reprodução, os autores admitiram que um alto número de quiasmas levaria à formação de uma grande quantidade de gametas diferentes. Esta variabilidade daria flexibilidade às populações, o que permitiria a ocupação de novos habitats. Por outro lado, um baixo número de quiasmas produziria gametas que seriam mais semelhantes aos gametas parentais e isto produziria estabilidade. DARLINGTON (1956) sugeriu que deve haver sempre um equilíbrio entre flexibilidade e estabilidade. Neste equilíbrio, os sistemas de cruzamentos são importantes. A hipótese é que excesso de estabilidade, conferido por autofecundação, seria compensado por uma alta taxa de recombinação. Em alógamas, por outro lado, a flexibilidade seria obtida pela mistura de material genético através dos cruzamentos. O balanço estabilidade-flexibilidade, neste caso, é mantido pela baixa frequência de quiasmas.

A maioria dos trabalhos admite que a variação na frequência e posição dos quiasmas promovem a liberação de variabilidade genética. Isto, contudo, não precisa estar correlacionado com a quantidade de variação genética presente, como coloca PRICE & McBRIDE (1981), pois alta frequência de quiasmas pode, na verdade, resultar em redução de variação genética

se a seleção fixa alguns genótipos às expensas de outros (REES & DALE, 1974). Isto foi confirmado, por exemplo, em *Drosophila melanogaster* (TUCIC *et alii*, 1981), onde a frequência de recombinação e a adaptabilidade apresentaram correlação negativa.

2.3.2. Frequência de quiasmas e caracteres agrônômicos

Há algum tempo, pesquisadores vêm investigando a existência de correlação entre frequência de quiasmas e parâmetros populacionais e, mais recentemente, com componentes de produtividade. Neste sentido, REES & AHMAD (1963) observaram que a frequência de quiasmas em *Lolium perenne* esteve altamente correlacionada com longevidade. O mesmo foi observado em centeio (SUN & REES, 1964) e em *Lolium multiflorum* (CROWLEY, 1969).

A frequência de quiasmas tem sido também correlacionada com a adaptabilidade varietal. Seis variedades de trigo que diferiam no grau de adaptabilidade foram analisadas por DAS & JAIN (1972). Verificou-se que as variedades agronomicamente mais estáveis mostraram maior frequência de quiasmas. Resultados similares foram encontrados em *Vicia faba* (FAYED *et alii*, 1984).

MÜNTZING & AKDIK (1948) parecem ter sido os pioneiros em demonstrar correlação positiva entre frequência de quiasmas e altura da planta em centeio. A correlação entre frequência de quiasmas e 36 caracteres, incluindo caracteres morfológicos e fisiológicos, foi analisada em duas espécies de trigo, *Triticum longissimum* (autógama) e *T. speltoides* (alógama) por HILLEL *et alii* (1973). Somente alguns caracteres mostraram correlação com a frequência de quiasma total. Contudo, quando se tomou

somente a quantidade de quiasmas intersticiais como base para os cálculos, correlação significativa foi observada em 40% dos caracteres investigados, sendo negativa na espécie autógama e positiva na espécie alógama. TEHRANI & WRICKE (1977) ao avaliarem a correlação entre freqüência de quiasmas com altura da planta, produção de grãos e peso de mil grãos em centeio, observaram correlação somente entre freqüência de quiasmas e produção de grãos.

Ao analisarem 14 genótipos de milho, incluindo híbridos e suas linhagens parentais, SRIVASTAVA & BALYAN (1977) admitiram que a heterose observada nos híbridos para cinco caracteres quantitativos, dentre os seis que foram analisados, foi devida à maior freqüência de quiasmas destes em relação às linhagens.

Em feijão (*Phaseolus vulgaris*), SRIVASTAVA (1980a) analisou linhagens, híbridos e gerações segregantes para avaliar a relação entre freqüências de quiasmas e caracteres envolvidos na produção. Verificou que nos híbridos e populações segregantes a freqüência de quiasmas foi maior e estes foram mais intersticiais. Este comportamento superior dos cromossomos esteve associado positivamente com produção, índice de colheita e eficiência de produção. Outro trabalho com feijão, utilizando dez linhagens geograficamente diversas e cinco híbridos entre elas, foi realizado por SRIVASTAVA (1981). Averiguou-se a correlação entre freqüência de quiasmas e rendimento de grãos, matéria seca total, índice de colheita, eficiência de rendimento em grãos e eficiência em matéria seca total produzida. Observou-se que os híbridos exibiram heterose para freqüência de quiasmas e esta se refletiu, posteriormente, em uma superioridade fenotípica dos híbridos com relação aos cinco caracteres acima citados.

Quatro cultivares de algodão altamente produtivas e localmente adaptadas foram também examinadas por SRIVASTAVA (1980b), a fim de verificar a existência de correlação entre frequência de quiasmas e caracteres quantitativos incluindo produção e propriedades da fibra. A frequência de quiasmas esteve correlacionada com número de capulhos, produção de sementes, índice de sementes, produção de linter e índice de linter.

Em todos estes trabalhos, SRIVASTAVA discute a associação entre a heterose para frequência de quiasmas e a heterose para os caracteres quantitativos, como devida a um aumento de variabilidade genética promovida pelo aumento de recombinação entre cromossomos homólogos. Como em todas as populações híbridas a frequência de quiasmas intersticiais foi maior que nas linhagens, o autor considera que tais quiasmas podem ser um mecanismo efetivo para manter a diversidade genética e heterose em populações híbridas.

A correlação entre frequência de quiasmas e capacidade de combinação parece ter sido avaliada, até o momento, somente em milho. PAGLIARINI (1983) analisou seis linhagens endogâmicas de milho, pertencentes a três origens (Cateto, Piramex e Tuxpan). Cada origem foi representada por duas linhagens que diferiam entre si na capacidade de combinação. Em cada origem, a linhagem com alta capacidade de combinação mostrou uma tendência em apresentar maior frequência de quiasmas, maior homogeneidade na formação de quiasmas e menor porcentagem de plantas com cromossomos univalentes que as linhagens com baixa capacidade de combinação. Estes resultados foram confirmados por PAGLIARINI *et alii* (1986a), ao analisarem vinte linhagens, sendo dez de alta capacidade de combinação e dez de baixa

capacidade de combinação. Como estas análises da frequência de quiasmas em milho têm despertado o interesse de melhoristas, pretende-se analisar um número maior de linhagens a fim de verificar se realmente a frequência de quiasmas poderia ser usada como um caráter que permite a seleção eficaz de linhagens.

2.4. Ocorrência de anormalidades meióticas

Em capítulo anterior, descreveu-se que plantas alógamas têm um grau de heterozigose que lhes assegura uma meiose normal. Descreveu-se, também, que quando esta heterozigose é quebrada por autofecundações forçadas, algumas anormalidades, como presença de univalentes, podem se tornar frequentes. Contudo, inúmeros trabalhos têm demonstrado que não somente univalentes, mas outros tipos de anormalidades podem ocorrer com maior frequência.

A análise meiótica em linhagens endogâmicas de centeio realizada por LAMM (1936), revelou a presença de células gigantes com número de cromossomos alterado, fragmentos, pontes anafásicas e plantas com 16 cromossomos. Algumas destas anormalidades foram também descritas por MÜNTZING & AKDIK (1948) e REES (1955). Um estudo detalhado da localização de quebras cromossômicas em uma linhagem foi realizado por REES & THOMPSON (1955).

Células tetraplóides gigantes, pontes anafásicas com ou sem fragmentos também foram descritas em algumas plantas de rabanete endogâmico (DAYAL, 1979).

Em milho, alguns trabalhos têm demonstrado que a endogamia pode levar a um aumento na frequência de anormalidades meióticas. CLARK (1942) ao analisar 36 progênies semi-estéreis, verificou que algumas delas mostraram translocação recíproca, inversão e assinapse interferindo no processo meiótico. Falta de pareamento paquitênico em alguns segmentos cromossômicos e arranjo irregular dos quatro micrósporos nas tétrades foram observados por MORRIS & ISIKAN (1964).

PAGLIARINI & AGUIAR-PERECIN (1979) e PAGLIARINI (1980), ao analisarem 43 plantas de uma população F_2 encontraram várias plantas que apresentaram células binucleadas e células gigantes uninucleadas. Uma única planta mostrou algumas células com falta de pareamento paquitênico em algumas regiões cromossômicas. Total desintegração cromossômica, deixando a cromatina com aspecto pulverizado, foi observada em algumas células de inúmeras plantas desta população. É interessante observar que dentre quatro populações F_2 analisadas, somente uma população (78 x 2), resultante de autofecundação do cruzamento da linhagem 2, pertencente à raça Zapalote Chico, com sete ciclos de autofecundação com a linhagem 78, pertencente ao milho Cerimonial do grupo Avati Moroti, com quatro ciclos de autofecundação, apresentou algumas plantas com anormalidades meióticas. Outra população F_2 (78 x 1), sendo a linhagem 1 também pertencente à raça Zapalote Chico com sete ciclos de autofecundação, não apresentou nenhuma anormalidade meiótica, exceto a presença de univalentes, comum a todas as populações F_2 . Estes resultados sugerem que alguns genes colocados em homozigose pela autofecundação devem levar ao aparecimento destas irregularidades na meiose.

Fusão celular espontânea foi recentemente descrita por PEETERS *et alii* (1985) em milho pipoca himalaio. Uma única planta apresentou

este fenômeno e em baixa frequência de células. Como resultado das fusões, células poliplóides foram observadas. Nestas células, nem sempre os complementos cromossômicos estavam completos e a cromatina de um complemento sempre parecia entrar em processo de degradação, sem efeito aparente para o outro complemento. Este processo de degradação podia ser parcial e dar origem a células aneuplóides ou a células com cromossomos supernumerários modificados. Fusão celular induzida por raios-X já havia sido descrita por MORGAN (1956).

2.5. Outros fatores que afetam a frequência de quiasmas

Existe uma riquíssima literatura que descreve os fatores que afetam a formação de quiasmas. No entanto, como o presente trabalho não visa avaliar profundamente este aspecto da formação de quiasmas, citar-se-ão aqui apenas os trabalhos mais representativos dentro do contexto deste estudo. Para uma revisão dos fatores que afetam a formação de quiasmas, pode-se consultar SYBENGA (1972, p.125). Em *Schistocerca gregaria*, por exemplo, SHAW (1971) encontrou que 40% da variação observada na frequência de quiasmas foi devida à ação do ambiente.

Dentre os fatores ambientais, a temperatura tem sido o agente mais amplamente analisado no que se refere à sua influência sobre a frequência de quiasmas. Inúmeros organismos já foram analisados e os resultados obtidos sempre foram muito contrastantes, variando desde correlação positiva até correlação negativa ou efeito algum da temperatura sobre a frequência de quiasmas (para revisão, veja ELLIOT, 1955; WILSON, 1959). Destas datas para cá, inúmeros outros trabalhos foram realizados e

os resultados foram diversos.

Recentemente, tem-se observado uma preocupação dos citogeneticistas, aliados aos melhoristas, em se avaliar o papel do ambiente na ocorrência de anomalias meióticas, inclusive no índice de recombinação, em espécies de valor econômico.

No Brasil, pesquisadores da Universidade Federal do Rio Grande do Sul vêm avaliando o papel do ambiente na ocorrência de anomalias meióticas em trigo (para revisão, veja MORAES-FERNANDES *et alii*, 1984). Tem sido observado que altas temperaturas levam à esterilidade do pólen e queda na produção de grãos, além de outros distúrbios meióticos. Apesar dos autores não terem avaliado a frequência de quiasmas, os univalentes por eles observados que levaram à formação de micronúcleos e aborto de pólen, podem ser decorrentes de baixa frequência de quiasmas.

DEL DUCA (1976) efetuou uma avaliação do índice meiótico, isto é, porcentagem de quartetos de pólen normais em 17 cultivares de trigo do Rio Grande do Sul. As amostras foram coletadas em quatro locais e em diversas datas. Os resultados mostraram que fatores climáticos como temperatura, precipitação e insolação estavam envolvidos na ocorrência de quartetos anormais. Os coeficientes de correlação foram baixos, porém, significativos. As cultivares instáveis mostraram comportamento similar em diferentes locais e datas de coleta, indicando que o genótipo tem papel importante na instabilidade meiótica. Resultados semelhantes foram encontrados por MORAES-FERNANDES (1982), ao avaliar 97 cultivares de trigo do programa de melhoramento do CNPT.

ZANETTINI (1982) avaliou a meiose de seis cultivares de trigo desenvolvidas em Brasília, onde as condições climáticas não apresentam flutuações drásticas. Estudou também as progênes de linhas puras de plantas dessas cultivares coletadas em três locais da região Sul e em Fitoron, onde a temperatura, luz e umidade foram controladas. Os resultados mostraram valores de regressão e coeficientes de determinação significativos para algumas variáveis meióticas, indicando assim um efeito limitado da luz, temperatura e umidade no comportamento meiótico.

Em milho, após consulta à literatura, observou-se quase que complexa inexistência de trabalhos avaliando a influência de fatores ambientais diretamente sobre a frequência de quiasmas. MA (1976), verificou que a taxa de permuta genética entre três genes, avaliada por teste de três pontos, foi diretamente proporcional à intensidade luminosa que as plantas receberam. PAGLIARINI & AGUIAR-PERECIN (1983) analisaram a frequência de quiasmas em três híbridos simples de milho que foram cultivados em diferentes locais e épocas do ano. Verificaram que qualquer um deles manteve constante a formação de quiasmas em qualquer que fosse o local ou a época de coleta, revelando o alto grau de tamponamento contra as variações ambientais que os híbridos apresentam.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

3.1.1. Material utilizado para testar a relação entre frequência de quiasmas e capacidade de combinação

A fim de averiguar a relação entre frequência de quiasmas e capacidade de combinação, utilizaram-se 40 linhagens endogâmicas (S₇) de milho (*Zea mays* L.). Estas linhagens foram fornecidas pelo Engenheiro Agrônomo Juan Fernando Aguilar Morán e pertencem aos programas de Melhoramento do Instituto de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

AGUILAR MORÁN (1984), em sua dissertação de mestrado, utilizou 264 linhagens S₄ do Composto Flint-PB e 364 linhagens S₄ do Composto Dentado-PB, selecionadas pelo Prof. Dr. J.B. de Miranda Filho. As linhagens de cada população (linhas femininas despendoadas), foram cruzadas com um testador tipo sintético, proveniente da população contrastante. Assim, obtiveram-se 628 híbridos "top-crosses". Dentre os 264

"top-crosses" das linhagens Flint, foram selecionadas 50 linhagens, sendo 25 com alta capacidade de combinação e 25 com baixa capacidade de combinação. Dos 364 "top-crosses" das linhagens Dentado, selecionaram-se também 50 linhagens, sendo 25 com alta capacidade de combinação e 25 com baixa capacidade de combinação.

MIRANDA FILHO (1974) faz uma descrição sobre a origem das populações-base de onde foram extraídas tais linhagens. As populações Composto Dentado-PB e Composto Flint-PB foram obtidas a partir do cruzamento das populações Composto Dentado A e Composto Flint, respectivamente, com sete variedades que apresentavam porte da planta reduzido como característica poligênica. Tais variedades foram: 1) Tuxpeño Crema I - Planta Baja, PR 71-A; 2) Piracar-I; 3) MEB-I; 4) Mezcla Amarilla (264-PL) PR 71-A; 5) Eto Blanco - Planta Baja, 71 A; 6) Antigua Gpo 2; 7) Cateto Argentina Uruguai. Maiores detalhes sobre cada uma destas variedades podem ser encontrados em MIRANDA FILHO (1974). O Composto Dentado A foi obtido no Instituto de Genética (ESALQ/USP) pelo Dr. Ernesto Paterniani, na década de 60, a partir do cruzamento de 12 populações de milhos brancos e amarelos, representativos de germoplasmas do México, da América Central e da América do Sul. A identificação destas 12 populações pode ser encontrada em QUEIROZ (1969). O Composto Flint foi obtido no Instituto de Genética (ESALQ/USP), a partir do cruzamento de 18 populações de milhos brancos e amarelos de endosperma tipo duro ("flint"), originários principalmente da América Central, Colômbia e Brasil. A identificação destas populações pode ser encontrada em QUEIROZ (1969).

Dando continuidade às pesquisas com estas 100 linhagens, em trabalhos subsequentes do mesmo pesquisador, elas foram usadas como macho e cruzadas com quatro testadores geneticamente relacionados ou não. Estes cruzamentos foram realizados em Piracicaba, Ribeirão Preto e Birigui, em dois anos agrícolas e diversas características agrônomicas foram avaliadas.

Destas 100 linhagens, foram utilizadas neste trabalho, por motivo de disponibilidade de sementes remanescentes, apenas 40 linhagens, assim distribuídas e designadas por AGUILAR MORÁN:

- 1) Dez (10) linhagens C. Flint-PB - Baixa capacidade de combinação - (1065, 1282, 1313, 1320, 1326, 1336, 1344, 1345, 1408 e 1419).
- 2) Quinze (15) linhagens C. Flint-PB - Alta capacidade de combinação - (1055, 1064, 1086, 1092, 1244, 1276, 1278, 1284, 1332, 1334, 1350, 1371, 1383, 1389 e 1406).
- 3) Dez (10) linhagens C. Dentado-PB - Baixa capacidade de combinação - (1187, 1195, 1234, 1267, 1737, 1741, 1782, 1794, 1808 e 1823).
- 4) Cinco (5) linhagens C. Dentado-PB - Alta capacidade de combinação - (1581, 1609, 1622, 1657 e 1715).

Os quatro testadores que estão sendo utilizados nos "top-crosses" com estas 40 linhagens também tiveram a sua frequência de químas avaliada. A descrição destes testadores e suas denominações abreviadas adotadas para o presente trabalho são apresentados a seguir:

- 1) Sintético Flint-PB - Geneticamente relacionado - (SIN-FLINT-PB-GR).
Origem descrita em AGUILAR MORÁN (1984).
- 2) Sintético Dentado-PB - Geneticamente relacionado-(SIN-DENTADO-PB-GR).
Origem descrita em AGUILAR MORÁN (1984).
- 3) Híbrido Simples Flint - Geneticamente não relacionado - (HS-FLINT-GNR).
Sementes fornecidas pela Empresa Agrícola Germinal.
- 4) Híbrido Simples Dentado - Geneticamente não relacionado - (HS-DENTADO-GNR). Sementes fornecidas pela Empresa Agrícola Germinal.

As sementes das 40 linhagens e dos quatro testadores foram plantadas simultaneamente no campo experimental do Instituto de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP, em Piracicaba, SP, no ano agrícola de 1985/1986.

3.1.2. Material utilizado para avaliação de possíveis influências ambientais sobre a frequência de quiasmas

A fim de se verificar a influência do ambiente na frequência de quiasmas em linhagens, utilizaram-se 18 genótipos distribuídos em cinco grupos genéticos que diferiam entre si no grau de heterozigose, a saber: híbridos duplos, híbridos simples, híbridos "top-crosses", compostos e linhagens. Em cada grupo haviam três genótipos distintos, exceto para linhagens, representadas por seis genótipos, sendo três de germoplasma Flint e três de germoplasma Dentado. A descrição destes materiais é

apresentada na Tabela 1.

É oportuno salientar que as três linhagens Flint e as três linhagens Dentado aqui utilizadas são aparentadas com as linhagens Flint e Dentado que estão sendo utilizadas para se correlacionar frequência de quiasmas com capacidade de combinação. As referidas linhagens foram retiradas do lote das 628 linhagens S₄ obtidas pelo Prof. J.B.de Miranda Filho, de onde se selecionaram as 100 linhagens utilizadas por AGUILAR MORÁN (1984). Após consultas aos arquivos, verificou-se que nenhuma destas seis linhagens S₄ deu origem a algumas das linhagens S₇ utilizadas para se correlacionar frequência de quiasmas com capacidade de combinação neste trabalho.

As sementes destes 18 genótipos foram plantadas na Fazenda Experimental da Universidade Estadual de Maringá-PR. Foram feitos três plantios em épocas distintas, cujas coletas de inflorescências para análise da frequência de quiasmas foram realizadas entre 15-11-83 a 05-12-83 (Época I), 18-02-84 a 29-02-84 (Época II) e 08-12-84 a 28-12-84 (Época III). A Tabela 2 mostra dados médios envolvendo o período de coleta mais cinco dias que antecederam as mesmas, por se julgar um período onde processos que antecedem a meiose deveriam estar ocorrendo. Nesta Tabela constam informações sobre temperatura (°C), umidade relativa do ar (%), precipitação (mm) e insolação (hs).

Tabela 1. Grupo genotípico, designação do material, simbologia adotada e local de aquisição dos materiais utilizados para avaliar a estabilidade na frequência de quiassmas

| Grupo genotípico | Designação do material | Simbologia adotada | Local de aquisição |
|----------------------------------|--|-------------------------|--------------------------|
| Híbridos duplos (grupo 1) | Cargill C-408 | C-408 | Comércio |
| | Cargill C-511 | C-511 | " |
| | Agroceres Ag-301 | Ag-301 | " |
| Híbridos simples (grupo 2) | Linhagem Cateto x linhagem Piramex | HS-1 | Sementes Agroceres S.A.* |
| | Linhagem Tuxpan x linhagem Cateto | HS-2 | " |
| | Linhagem Piramex x linhagem Tuxpan | HS-3 | " |
| Híbridos "Top-crosses" (grupo 3) | Linhagem Dentado-PB-1630 x Composto Flint-PB | HTc-1 | ESALQ/USP** |
| | Linhagem Dentado-PB-1629 x Composto Flint-PB | HTc-2 | " |
| | Linhagem Dentado-PB-1632 x Composto Flint-PB | HTc-3 | " |
| Compostos (grupo 4) | Composto Flint- Br ₂ - Branco | C.Flint Br ₂ | ESALQ/USP** |
| | Composto PB-Flint | C.PB-Flint | " |
| | Composto ESALQ/PB ₁ | C.ESALQ-PB ₁ | " |
| Linhagens (grupo 5) | Linhagem Flint-PB-1559 | LF-1559 | ESALQ/USP** |
| | Linhagem Flint-PB-1584 | LF-1584 | " |
| | Linhagem Flint-PB-1562 | LF-1562 | " |
| Linhagens (grupo 6) | Linhagem Dentado-PB-877 | LD-877 | ESALQ/USP** |
| | Linhagem Dentado-PB-913 | LD-913 | " |
| | Linhagem Dentado-PB-926 | LD-926 | " |

* Material cedido pela Sementes Agroceres S.A., Santo Antônio da Platina-PR.

** Material cedido pelo Prof. J.B.de Miranda Filho, Departamento de Genética, ESALQ/USP, Piracicaba, SP.

Tabela 2. Valores médios de temperatura, umidade relativa do ar, precipitação e insolação para as três épocas de coleta

| Época | Temperatura (°C) | | | Umidade relativa do ar (%) | Precipitação (mm) | Insolação (hs) |
|-------|------------------|--------|--------|----------------------------|-------------------|----------------|
| | Média | Máxima | Mínima | | | |
| I | 23,10 | 28,56 | 17,81 | 63,35 | 4,96 | 8,76 |
| II | 27,73 | 32,54 | 22,18 | 63,80 | 0,20 | 8,30 |
| III | 24,23 | 27,78 | 18,78 | 69,62 | 7,04 | 6,88 |

Dados fornecidos pela Estação Climatológica Principal de Maringá, PR - INMET/UEM.

3.2. Métodos

3.2.1. Preparação citológica dos microsporócitos e coleta de dados

O procedimento a ser descrito aqui foi utilizado tanto para as linhagens onde se correlacionou frequência de quiasmas com capacidade de combinação, como no experimento onde se avaliou a influência do ambiente na frequência de quiasmas. Utilizou-se a mesma metodologia empregada por VILLAMIZAR (1976).

As inflorescências masculinas para os estudos meiôticos foram colhidas entre 7:00 e 10:00 horas e, em seguida, fixadas em Carnoy (3 álcool absoluto: 1 ácido acético) durante 24 horas. Após este período, o material foi transferido para álcool a 70%, onde permaneceu por 24 horas. Em seguida, foi transferido para novo álcool a 70% e conservado em congelador até o momento de ser utilizado.

As lâminas foram preparadas por esmagamento e coradas com carmin propiônico a 1%. A contagem de quiasmas foi feita imediatamente após o preparo das lâminas, utilizando-se, em todos os casos, dez plantas por tratamento. O número de quiasmas por célula foi avaliado na fase de diacinese em vinte células por planta. Estas vinte células foram amostradas de três anteras grandes retiradas de ramos distintos da inflorescência masculina. Procurou-se sempre selecionar células em diacinese cujos cromossomos mostrassem, aparentemente, o mesmo grau de condensação a fim de minimizar possíveis erros decorrentes de se avaliar quiasmas com diferentes graus de terminalização.

Durante a contagem dos quiasmas, estes foram rigorosamente desenhados levando-se em conta a posição dos mesmos ao longo do bivalente, ou seja, se terminais ou intersticiais. Foram considerados como quiasmas intersticiais aqueles que estavam em posições onde as extremidades dos braços cromossômicos podiam ser vistas. Assim, para cada célula, avaliou-se a frequência total de quiasmas, a frequência de quiasmas intersticiais e a frequência de quiasmas terminais.

Toda e qualquer anormalidade meiótica observada nos microsporócitos foi analisada, quantificada e, se julgado necessário, fotografada. O número de cromossomos univalentes por célula, quando presentes, também foi avaliado. Quando o número de cromossomos univalentes era muito alto, ou seja, tais cromossomos estavam presentes em mais ou menos 25% das células analisadas em uma linhagem, analisou-se a meiose toda deste material, a fim de se estudar o comportamento dos univalentes durante a meiose.

3.2.2. Análise estatística dos dados

3.2.2.1. Média, erro padrão da média e coeficiente de variação entre e dentro de plantas

Para todos os tratamentos calculou-se a média para frequência de quiasmas, por microsporócito, frequência de quiasmas intersticiais e frequência de quiasmas terminais e seu respectivo erro padrão como uma medida da precisão da estimativa da média obtida.

Como uma medida de dispersão dos dados calculou-se, para estes três parâmetros, o coeficiente de variação entre e dentro de plantas. O coeficiente de variação entre plantas dá uma idéia sobre a variação na frequência de quiasmas entre as dez plantas de um mesmo tratamento, enquanto que o coeficiente de variação dentro de planta dá uma idéia sobre a variação na frequência de quiasmas dentro das anteras de cada planta. O valor apresentado para este parâmetro é um valor médio entre a variância dentro de plantas obtida para cada uma das dez plantas analisadas em cada linhagem.

3.2.2.2. Análise da variância da frequência de quiasmas em linhagens selecionadas para alta e baixa capacidade de combinação

Antes de se proceder as análises estatísticas, o número de quiasmas por microsporócito, considerando a frequência total de quiasmas, a frequência de quiasmas intersticiais e a frequência de quiasmas terminais foi transformado em $\sqrt{x+1,0}$, conforme sugerem SOKAL & HOHLF (1981).

As análises da variância para frequência de quiasmas por microsporócito, frequência de quiasmas intersticiais e frequência de quiasmas terminais seguiram um esquema de decomposição único, como pode ser visto nas Tabelas 3, 5 e 7, onde foram feitos todos os desdobramentos necessários para os graus de liberdade.

A estrutura da análise foi hierárquica, conforme propõem STEEL & TORRIE (1960), seguindo o seguinte esquema: tratamento, planta dentro de tratamento e célula dentro de planta dentro de tratamento.

As esperanças dos quadrados médios para a realização do teste F, embora não apresentadas, foram desenvolvidas de acordo com BENNET & FRANKLIN (1963).

As médias da frequência de quiasmas por microsporócito, frequência de quiasmas intersticiais e frequência de quiasmas terminais, transformadas em $\sqrt{x+1,0}$, foram comparadas pelo teste de Tukey, conforme metodologia descrita por PIMENTEL GOMES (1977). As comparações foram feitas entre linhagens de um mesmo grupo.

3.2.2.3. Análise da variância da frequência de quiasmas em materiais cultivados em diferentes anos agrícolas

A análise da variância no experimento que visou detectar influências ambientais sobre a frequência de quiasmas também foi hierárquica e com os desdobramentos necessários para os graus de liberdade, conforme pode ser visto na Tabela 10. O teste F foi realizado usando-se os mesmos critérios utilizados na análise da variância anterior.

3.2.2.4. Análise da variância das variâncias da frequência de quiasmas

Visando avaliar a homogeneidade da variância da frequência de quiasmas entre células dentro de plantas, realizou-se uma análise da variância das variâncias das frequências de quiasmas transformadas em $\sqrt{x+1,0}$ dentro de plantas. Esta análise foi realizada para os três caracteres aqui considerados, isto é, frequência de quiasmas por microsporócito, frequência de quiasmas intersticiais e frequência de quiasmas terminais. Antes de se proceder à análise estatística dos dados, as variâncias dentro de plantas foram transformadas logaritmicamente. A transformação empregada foi $\log_{10} (\sigma^2 + 1,0)$ onde σ^2 é a estimativa da variância dentro de planta. O esquema de decomposição empregado foi o mesmo utilizado para análise da frequência de quiasmas por microsporócito, frequência de quiasmas terminais e frequência de quiasmas intersticiais no experimento onde se correlacionou frequência de quiasmas com capacidade de combinação e no experimento onde se avaliou a estabilidade para formação de quiasmas em materiais cultivados em diferentes anos agrícolas. Esta análise já foi usada por ZARCHI *et alii* (1972), VILLAMIZAR (1976) e PAGLIARINI (1980).

3.2.2.5. Correlação entre frequência de quiasmas intersticiais e frequência de quiasmas terminais

A fim de verificar se a frequência de quiasmas intersticiais está correlacionada com a frequência de quiasmas terminais ou se são características independentes, calculou-se o coeficiente de correlação, célula a célula, entre estes dois parâmetros para cada tratamento.

3.2.2.6. Comparação da porcentagem de células com cromossomos univalentes e capacidade de combinação

Houve interesse em verificar se a capacidade de combinação poderia estar associada com o número de células com cromossomos univalentes. Como não existiam hipóteses a "priori" e os dois eventos poderiam ser independentes, o melhor teste a ser aplicado pareceu ser um teste de χ^2 de independência, utilizando-se uma tabela de contingência 2 x 2, conforme sugerem SOKAL & ROHLF (1981).

4. RESULTADOS

Os resultados obtidos na análise das 40 linhagens Dentado e Flint e seus testadores, bem como dos 18 genótipos cultivados em três épocas distintas, são apresentados a seguir.

4.1. Frequência de quiasmas em linhagens e testadores

4.1.1. Frequência de quiasmas por microsporócito

A frequência de quiasmas por microsporócito aqui considerada é o somatório da frequência de quiasmas intersticiais e frequência de quiasmas terminais.

A frequência média de quiasmas por microsporócito nas linhagens Flint, Dentado e testadores é apresentada nas Figuras 1 e 2, juntamente com o erro padrão e o coeficiente de variação entre e dentro de plantas. Por estas Figuras pode-se observar que houve variação na frequência de quiasmas entre as linhagens dentro de cada grupo. Esta diferença na frequência de quiasmas entre as linhagens de cada grupo e em outros níveis

de análise foi comprovada pela análise da variância (Tabela 3). Diferença significativa, a nível de 1%, foi encontrada entre todos os tratamentos, entre as linhagens Flint e as linhagens Dentado, entre as linhagens e os testadores, entre as linhagens Flint com baixa capacidade de combinação, entre as linhagens Flint com alta capacidade de combinação, entre as linhagens Dentado com baixa capacidade de combinação e entre as linhagens Dentado com alta capacidade de combinação. Entre os testadores geneticamente relacionados não houve diferença significativa para a frequência de quiasmas por microsporócito, enquanto que para os testadores geneticamente não relacionados a diferença foi a nível de 5%. Entre os dois grupos de testadores a diferença foi a nível de 1%.

As linhagens com baixa capacidade de combinação, tanto as Flint quanto as Dentado, mostraram tendência em apresentar menor frequência de quiasmas que as linhagens com alta capacidade de combinação, como pode ser observado nas Figuras 1 e 2. Esta diferença na frequência de quiasmas entre as linhagens com baixa e alta capacidade de combinação foi comprovada na análise da variância, tendo sido significativa a nível de 5% entre as linhagens Flint e a nível de 1% entre as linhagens Dentado. O teste de Tukey apresentado na Tabela 3 mostra esta tendência das linhagens com alta capacidade de combinação apresentarem maior frequência de quiasmas que as de baixa capacidade de combinação.

O coeficiente de variação entre plantas, dando uma indicação da variabilidade na frequência de quiasmas entre plantas, é apresentado nas Figuras 1 e 2 ao lado das respectivas distribuições da frequência média de quiasmas por planta. Estes histogramas e seus respectivos

coeficientes de variação mostram que existe muita variabilidade na frequência de quiasmas entre as linhagens. Esta variação parece não estar relacionada com a capacidade de combinação, pois tanto as linhagens de baixa quanto as de alta capacidade de combinação mostraram ampla variabilidade na frequência de quiasmas entre plantas. Comparativamente, as linhagens Flint (Figura 1) mostraram maior variabilidade na frequência de quiasmas entre plantas que as linhagens Dentado (Figura 2). Os testadores geneticamente não relacionados mostraram pouca variação na frequência de quiasmas entre plantas.

O coeficiente de variação dentro de planta, que mede a variabilidade na frequência de quiasmas entre células dentro de plantas, apresentado nas Figuras 1 e 2, revela que existe menor variabilidade para esta característica do que para a frequência de quiasmas entre plantas. Isto pode ser observado comparando-se a amplitude de variação do coeficiente de variação entre e dentro de plantas para cada um dos grupos de linhagens. A análise da variância das variâncias (Tabela 4) visando avaliar a homogeneidade da variância na frequência de quiasmas entre células dentro de plantas, confirma esta menor variabilidade, pois diferença significativa ($P < 0,01$) só foi detectada entre as linhagens Flint com baixa capacidade de combinação. Esta diferença deve ter sido causada pela linhagem LF-1320 que além de apresentar baixa frequência de quiasmas, apresentou também alta frequência de cromossomos univalentes e anormalidades no fuso de divisão em todas as plantas analisadas.

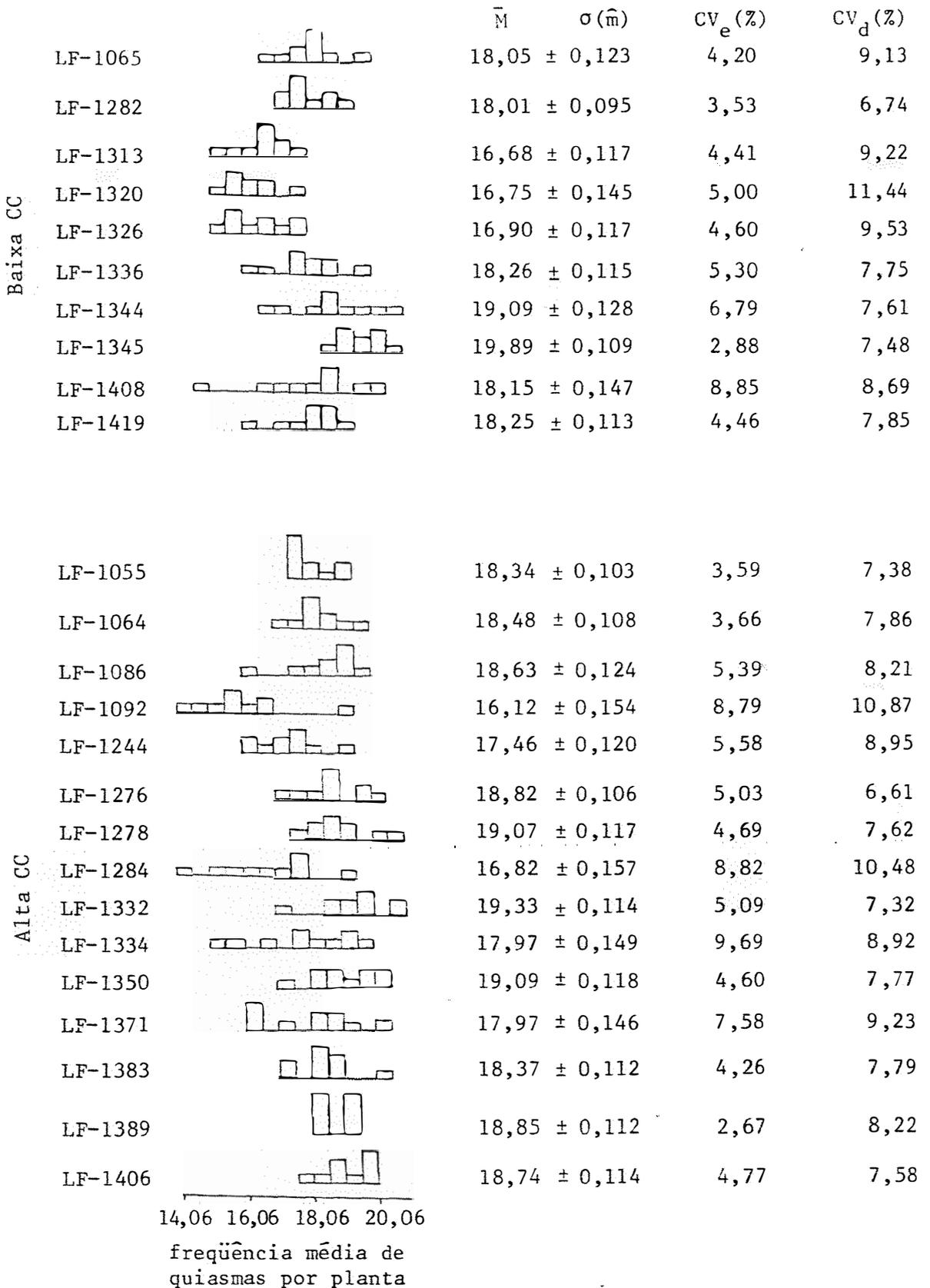


Figura 1. Distribuição de freqüência média de quiasmas por microsporócito média (\bar{M}), erro padrão ($\sigma(\hat{m})$) e coeficiente de variação entre (CV_e) e dentro de plantas (CV_d) para as linhagens Flint

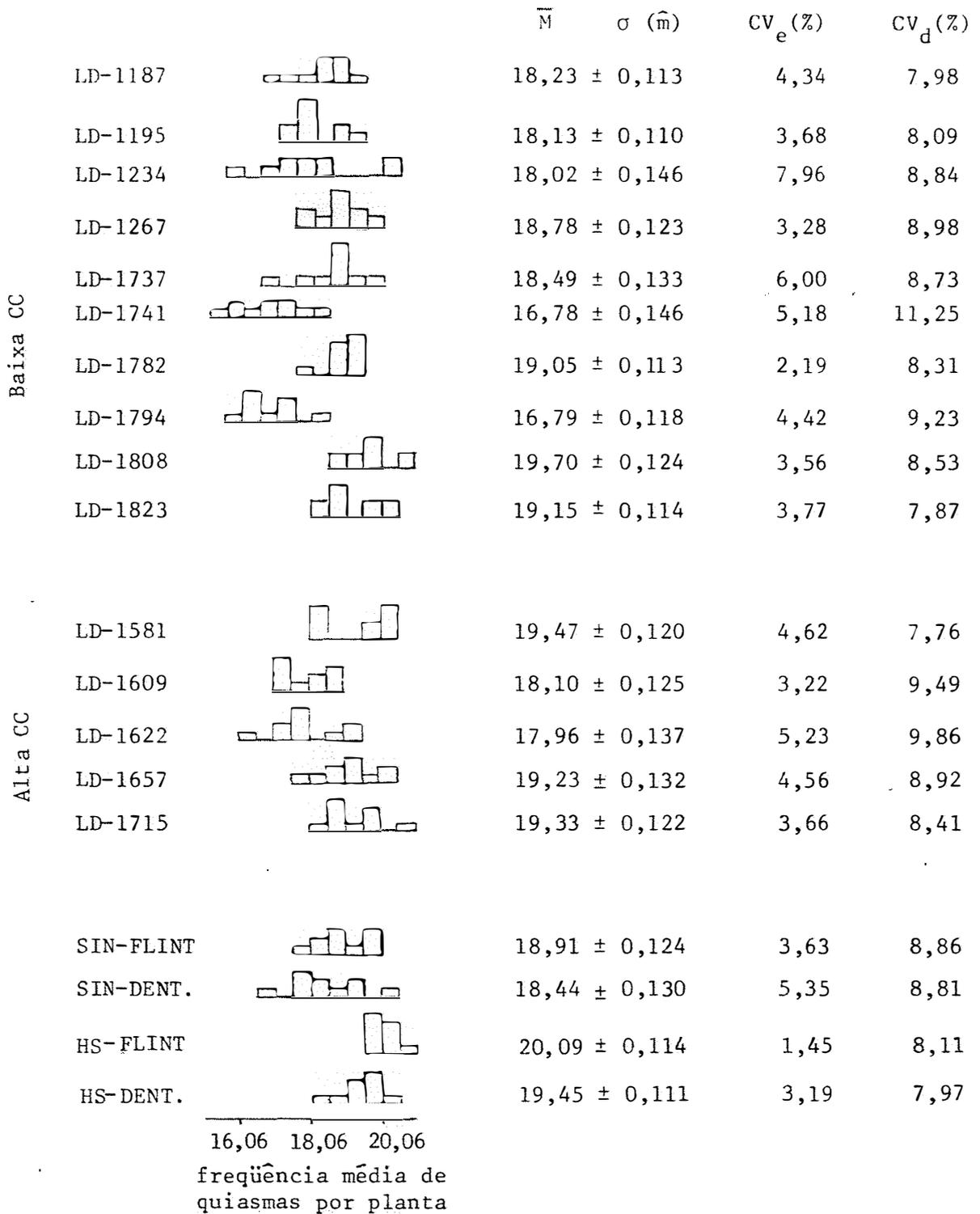


Figura 2. Distribuição da frequência média de quiasmas por microsporócito, média (\bar{M}), erro padrão ($\sigma(\hat{m})$) e coeficiente de variação entre (CV_e) e dentro (CV_d) de plantas para as linhagens Dentado e testadores

4.1.2. Frequência de quiasmas intersticiais

Foram considerados como quiasmas intersticiais aqueles que estavam em posições onde as extremidades dos braços cromossômicos podiam ser vistas. A Figura 3A mostra um microsporócito em diacinese com 10 bivalentes. Nesta célula podem ser contados 19 quiasmas, dos quais 2 são intersticiais e 17 são terminais. Tal microsporócito apresenta, portanto, baixa frequência de quiasmas intersticiais. A Figura 3B, por outro lado, mostra um microsporócito com alta frequência de quiasmas intersticiais. No caso, 5 quiasmas intersticiais e 18 terminais, totalizando 23 quiasmas.

As Figuras 4 e 5 mostram a distribuição da frequência média de quiasmas intersticiais por planta, para as linhagens Flint, Dentado e testadores. Ao lado são colocadas as médias e o respectivo erro padrão e o coeficiente de variação entre e dentro de plantas. Como pode ser observado, houve variação na frequência de quiasmas entre as linhagens dentro de cada grupo. Esta diferença na frequência de quiasmas intersticiais entre as linhagens de cada grupo e em outros níveis de análise foi comprovada pela análise da variância (Tabela 5). Diferença significativa, a nível de 1%, foi encontrada entre todos os tratamentos, entre as linhagens Flint com baixa capacidade de combinação, entre as linhagens Flint com alta capacidade de combinação, entre as linhagens Dentado com baixa capacidade de combinação e entre as linhagens Dentado com alta capacidade de combinação. Entre os testadores só houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os geneticamente não relacionados. Não houve diferença significativa para a frequência de quiasmas intersticiais entre as linhagens Flint e as linhagens Dentado, entre as linhagens e os testadores, bem como entre

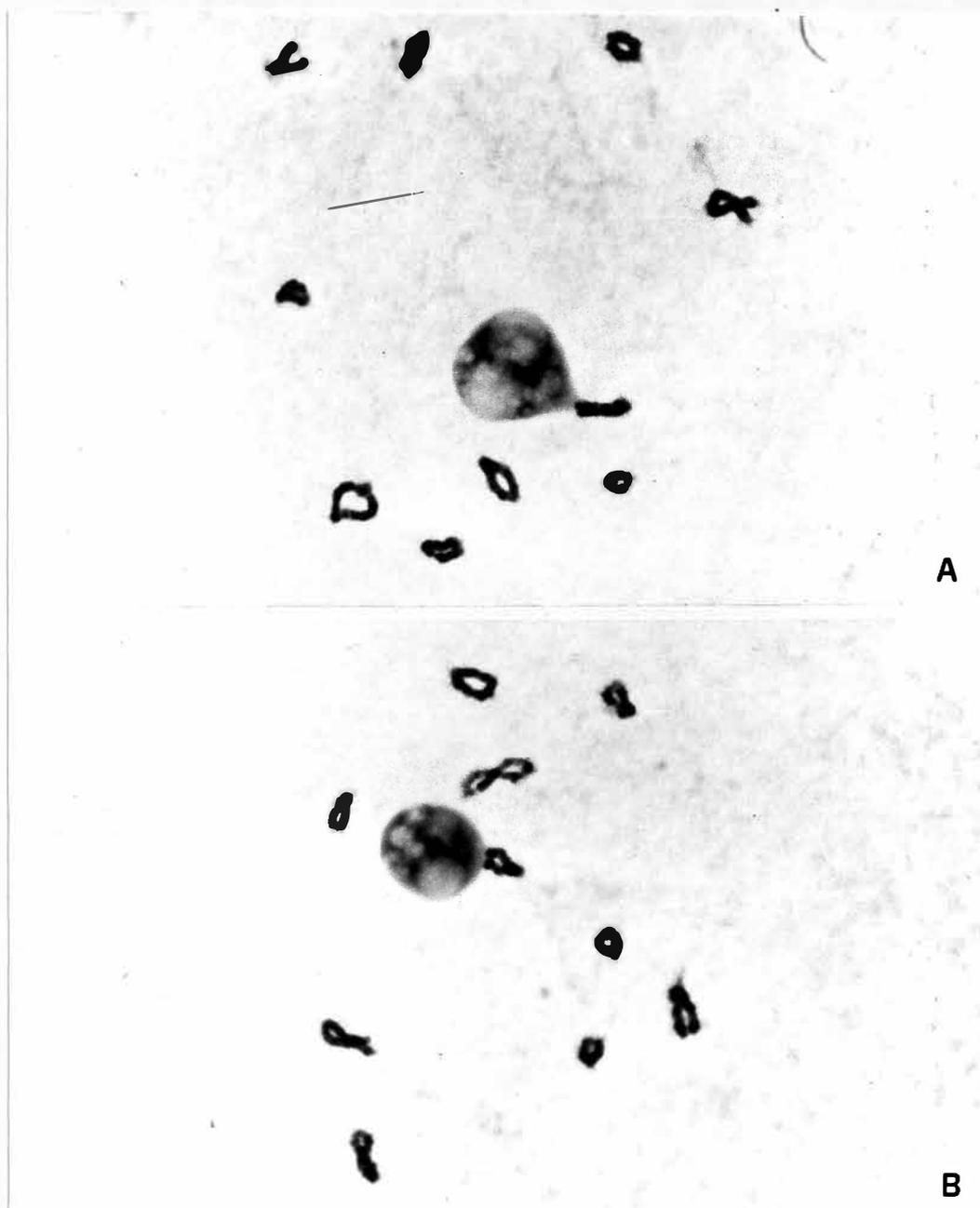


Figura 3. Microsporócito em diacinese mostrando quiasmas intersticiais e quiasmas terminais.

A) Dois quiasmas intersticiais e dezessete quiasmas terminais.

B) Cinco quiasmas intersticiais e dezoito quiasmas terminais.

os testadores geneticamente relacionados e os dois grupos de testadores.

As linhagens com baixa capacidade de combinação, tanto as Flint quanto as Dentado, diferiram das linhagens com alta capacidade de combinação com relação à frequência de quismas intersticiais ao nível de 1% (Tabela 5). As linhagens Flint com baixa capacidade de combinação apresentaram menor frequência de quismas intersticiais que as linhagens com alta capacidade de combinação. Isto pode ser visualizado na Figura 4. Entretanto, para as linhagens Dentado, a frequência de quismas intersticiais foi, em média, menor para as linhagens com alta capacidade de combinação. Isto não pode ser facilmente visualizado na Figura 5. O teste de Tukey apresentado na Tabela 5, mostra que há uma predominância de linhagens Flint com alta capacidade de combinação na parte superior das médias ordenadas, enquanto que para as linhagens Dentado há uma predominância de linhagens com baixa capacidade de combinação.

Os histogramas que compõem as Figuras 4 e 5 mostram que nem todas as linhagens apresentaram a mesma estabilidade na frequência de quismas intersticiais entre plantas. Verifica-se, por exemplo, que as linhagens Flint (Figura 4) com baixa capacidade de combinação mostraram maior variação na frequência de quismas entre plantas que as de alta capacidade de combinação. Isto também é evidenciado pela maior amplitude do coeficiente de variação entre plantas. Com relação às linhagens Dentado, a variação na frequência de quismas entre plantas parece ter sido maior nas linhagens com baixa capacidade de combinação (Figura 5). Os testadores geneticamente relacionados mostraram maior variabilidade na frequência de quismas entre plantas que os geneticamente não relacionados.

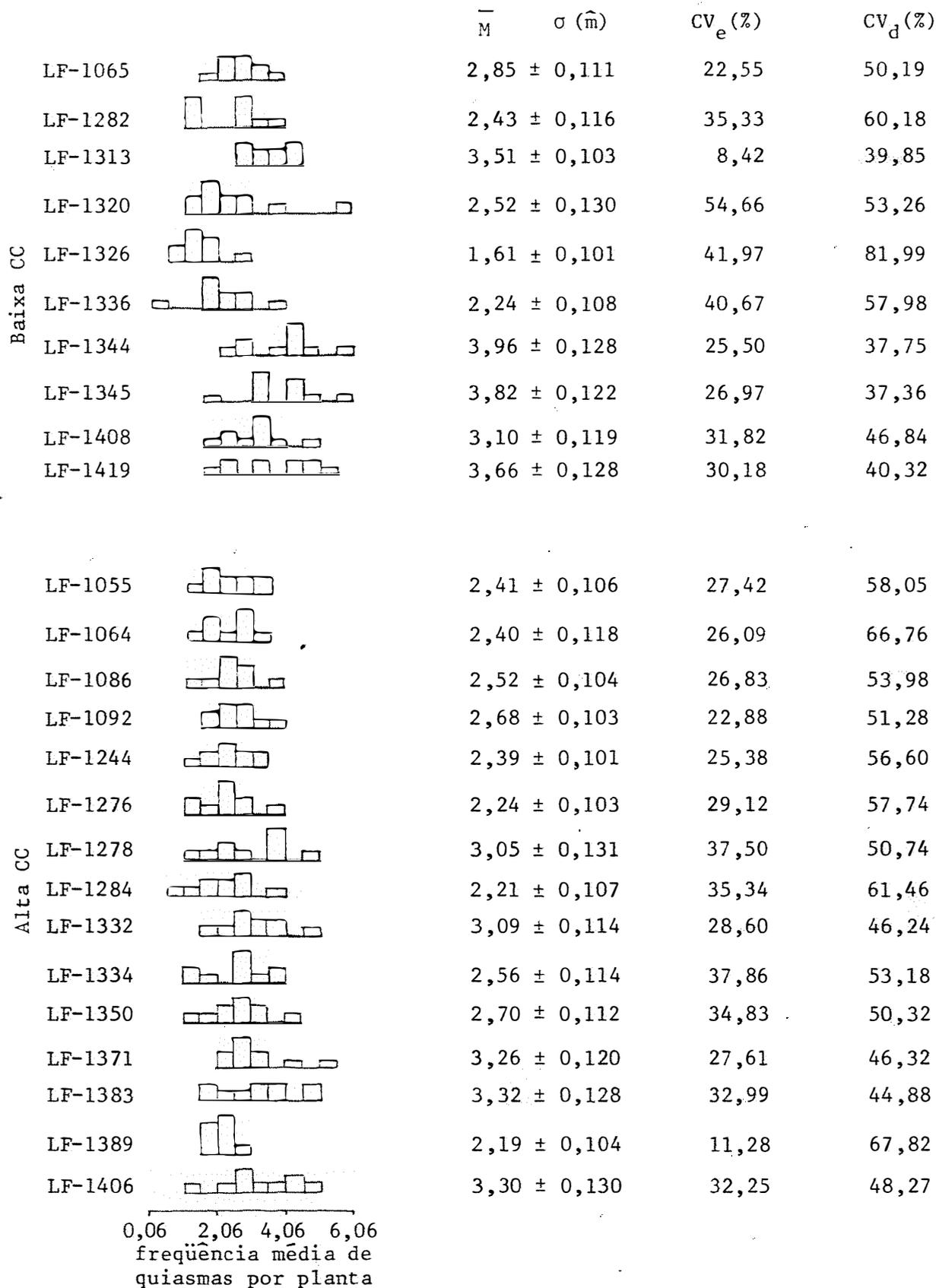


Figura 4. Distribuição da frequência média de quismas intersticiais, média (\bar{M}), erro padrão ($\sigma(\hat{m})$) e coeficiente de variação entre (CV_e) e dentro (CV_d) de plantas para as linhagens Flint

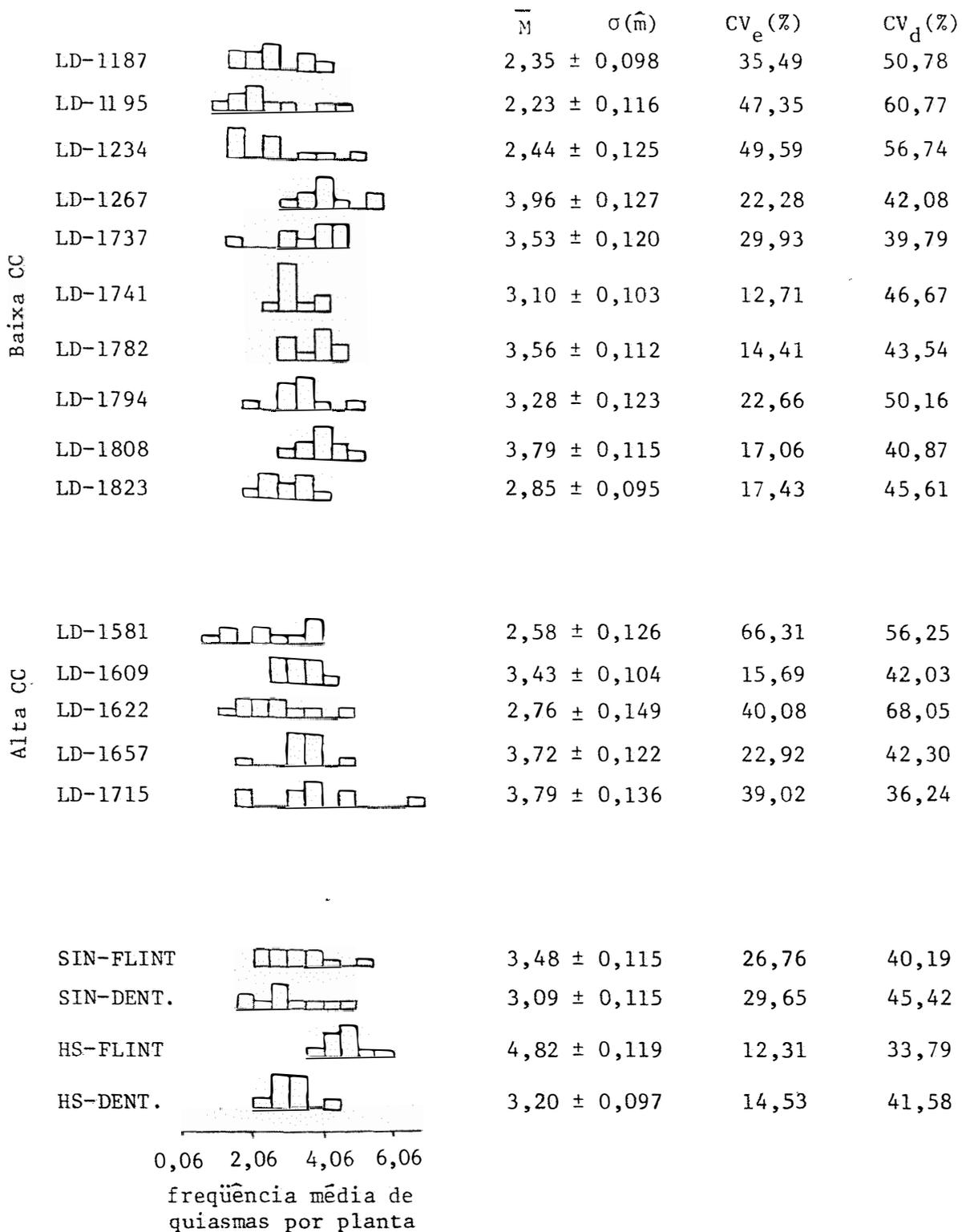


Figura 5. Distribuição da frequência média de quiassas intersticiais, média (\bar{M}), erro padrão ($\sigma(\hat{m})$) e coeficiente de variação entre (CV_e) e dentro (CV_d) de plantas para as linhagens Dentado e testadores

Com relação à variabilidade na frequência de quiasmas entre células dentro de plantas, a menor amplitude do coeficiente de variação dentro de planta (Figuras 4 e 5) mostra que as linhagens de cada grupo tiveram um comportamento mais homogêneo para esta característica quando comparada com a variabilidade na frequência de quiasmas entre plantas. A análise da variância das variâncias (Tabela 6) só detectou diferença significativa ($P < 0,01$) entre as linhagens Dentado com baixa capacidade de combinação. Os grupos de alta e baixa capacidade de combinação, tanto Flint quanto Dentado, não diferiram entre si para esta característica. Os altos valores do coeficiente de variação dentro de planta devem refletir erros na contagem de quiasmas com diferentes graus de terminalização entre células dentro de planta.

4.1.3. Frequência de quiasmas terminais

Foram considerados como quiasmas terminais aqueles que estavam exatamente nas extremidades dos braços cromossômicos e aqueles que sugeriam ter sofrido recente terminalização.

São apresentadas, nas Figuras 6 e 7, as distribuições das frequências médias de quiasmas terminais por planta, juntamente com a média e seu respectivo erro padrão e coeficiente de variação entre e dentro de plantas. Por estas Figuras pode-se observar que houve variação na frequência de quiasmas terminais entre as linhagens dentro de cada grupo. Esta variação na frequência de quiasmas entre as linhagens de cada grupo e em outros níveis de análise foi comprovada pela análise da variância (Tabela 7). Diferença significativa, a nível de 1%, foi encontrada entre

todos os tratamentos, entre as linhagens Dentado e as linhagens Flint, entre as linhagens e os testadores, entre as linhagens Flint com baixa capacidade de combinação, entre as linhagens Flint com alta capacidade de combinação, entre as linhagens Dentado com alta capacidade de combinação e entre os testadores geneticamente não relacionados. Entre as linhagens Dentado com alta capacidade de combinação e entre os dois grupos de testadores a diferença foi a nível de 5%. Não houve diferença significativa entre os testadores geneticamente relacionados para a frequência de quiasmas terminais.

Tanto para as linhagens Flint quanto para as linhagens Dentado, não se detectou diferença significativa entre os grupos com alta e baixa capacidade de combinação para a frequência de quiasmas terminais (Tabela 7).

Os histogramas que compõem as Figuras 6 e 7 mostram que as linhagens não apresentaram a mesma amplitude de variação na frequência de quiasmas terminais entre plantas. Algumas linhagens mostraram grande variabilidade para esta característica. Isto pode ser também verificado através do coeficiente de variação entre plantas. Comparando as Figuras 6 e 7, observa-se que as linhagens Dentado mostraram menor variabilidade na frequência de quiasmas terminais entre plantas que as linhagens Flint.

O coeficiente de variação dentro de planta (Figuras 6 e 7), mostrando a variação na frequência de quiasmas entre células dentro de plantas, revela que não houve grande variabilidade entre as linhagens para esta característica. A análise da variância das variâncias (Tabela 8) mostra que somente as linhagens Dentado com baixa capacidade de combinação

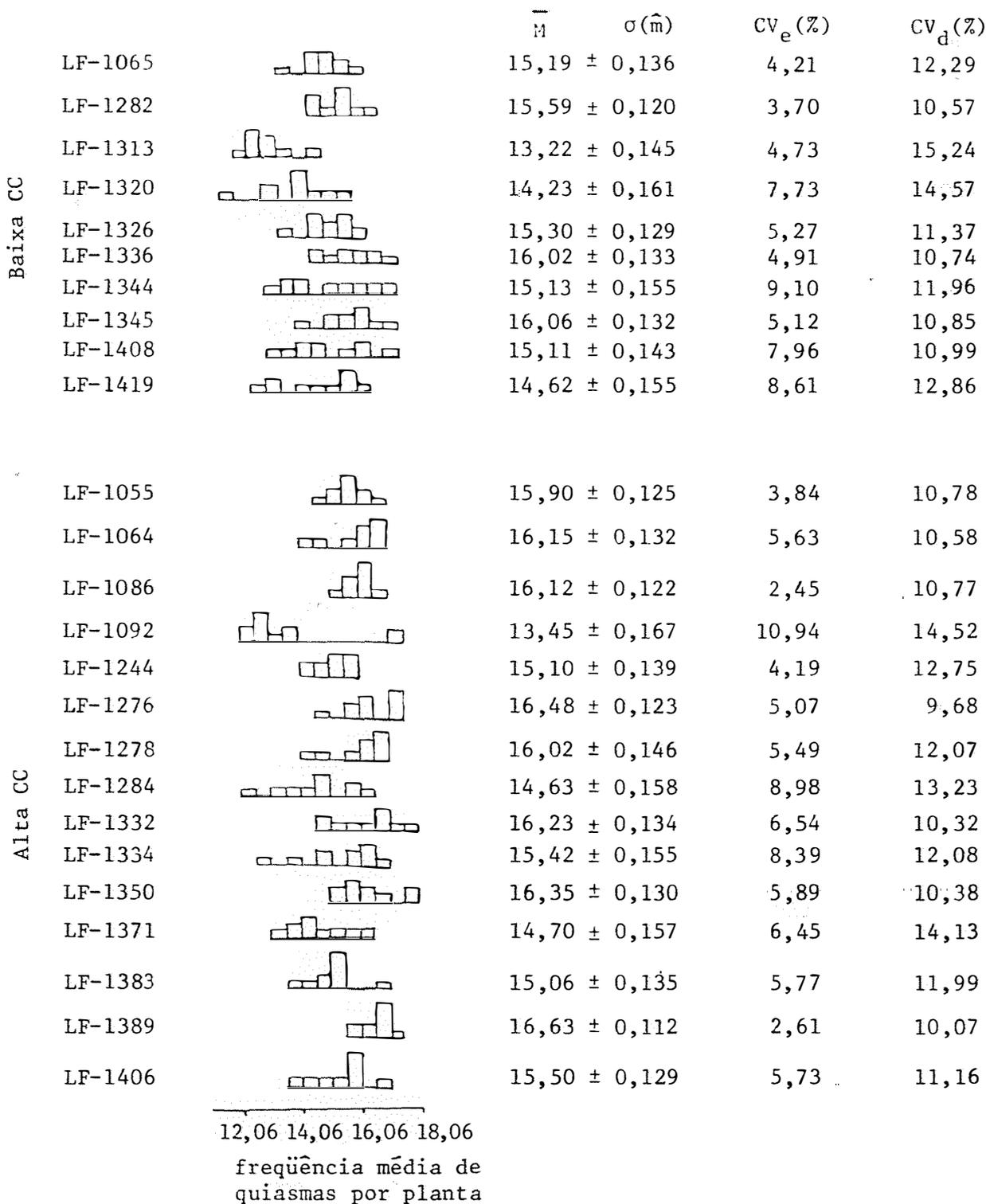


Figura 6. Distribuição da freqüência média de quiassmas terminais, média (\bar{M}), erro padrão ($\sigma(\hat{m})$) e coeficiente de variação entre (CV_e) e dentro (CV_d) de plantas para as linhagens Flint

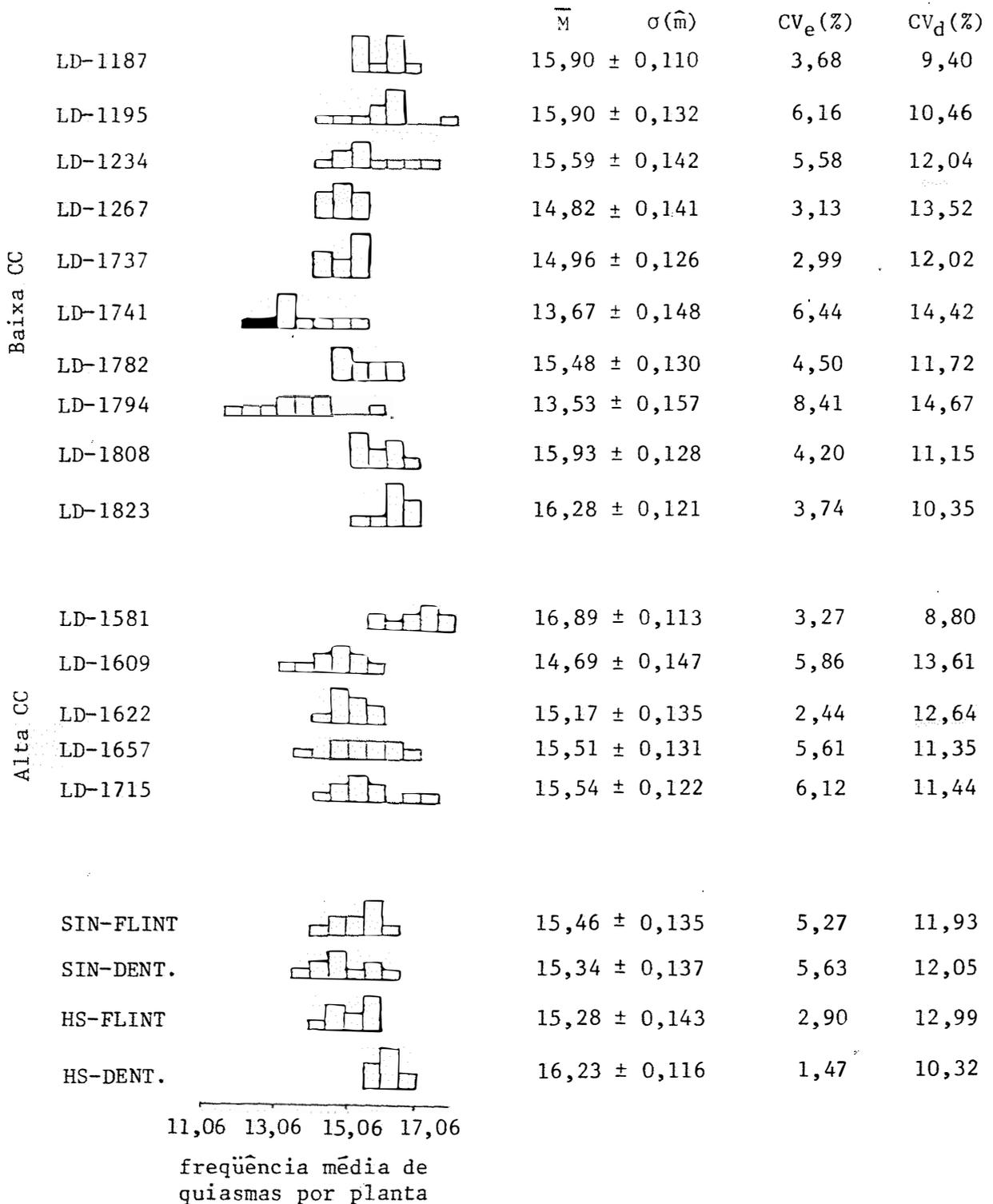


Figura 7. Distribuição da freqüência média de quiasmas terminais, média (\bar{M}), erro padrão ($\sigma(\hat{m})$) e coeficiente de variação entre (CV_e) e dentro (CV_d) de plantas para as linhagens Dentado e testadores

diferiram entre si ($P < 0,01$). Tanto para as linhagens Flint, quanto para as linhagens Dentado, não houve diferença entre os grupos de alta e baixa capacidade de combinação para a frequência de quiasmas terminais.

4.2. Correlação entre frequência de quiasmas intersticiais e frequência de quiasmas terminais

Como em algumas espécies tem sido demonstrado que a frequência de quiasmas intersticiais é independente da frequência de quiasmas por microsporócito, decidiu-se avaliar esta correlação em milho. Considerando que a frequência de quiasmas intersticiais está contida na frequência total de quiasmas e, assim, sempre demonstrariam correlação por serem variáveis dependentes, achou-se mais lógico averiguar a correlação entre frequência de quiasmas intersticiais e frequência de quiasmas terminais. O teste de correlação feito célula a célula, envolvendo estas duas características para cada tratamento, é apresentado na Tabela 15. Encontrou-se uma correlação negativa para todos os tratamentos. Os valores de r foram altamente significativos ($P < 0,01$) para a quase totalidade das linhagens e testadores. Somente a linhagem LD-1741 demonstrou não significância para o valor de r . Esta correlação negativa indica que as duas características estão correlacionadas e à medida que aumenta a frequência de quiasmas terminais, diminui a frequência de quiasmas intersticiais.

A Figura 8 mostra a distribuição da frequência de quiasmas intersticiais em relação a frequência de quiasmas por microsporócito. Pode-se observar que a frequência de quiasmas intersticiais foi relativamente baixa quando comparada com a frequência de quiasmas por microsporócito.

A percentagem de quiasmas intersticiais em relação aos quiasmas totais variou de 9,41% na linhagem LF-1326 a 21,10% na linhagem LD-1267 (Tabela 26). Pela Figura 8 pode-se observar que as linhagens com alta capacidade de combinação foram mais homogêneas na formação de quiasmas intersticiais. Esta mesma Figura mostra que parece não haver muita relação entre a frequência de quiasmas por microsporócito e a frequência de quiasmas intersticiais entre as linhagens, pois linhagens com aproximadamente a mesma frequência de quiasmas por microsporócito mostraram grandes variações com relação aos quiasmas intersticiais, sendo que a situação inversa também foi observada. Contudo, quando se colocou em gráfico a frequência de quiasmas por microsporócito de cada tratamento *versus* a frequência de quiasmas intersticiais (Figura 9) verificou-se que existe uma tendência da frequência de quiasmas intersticiais ser maior nas linhagens com alta frequência de quiasmas. O coeficiente de correlação entre estas duas características foi de 0,3756 ($P < 0,05$). Nesta Figura pode-se observar, entretanto, que algumas linhagens com baixa frequência de quiasmas por microsporócito mostraram alta frequência de quiasmas intersticiais.

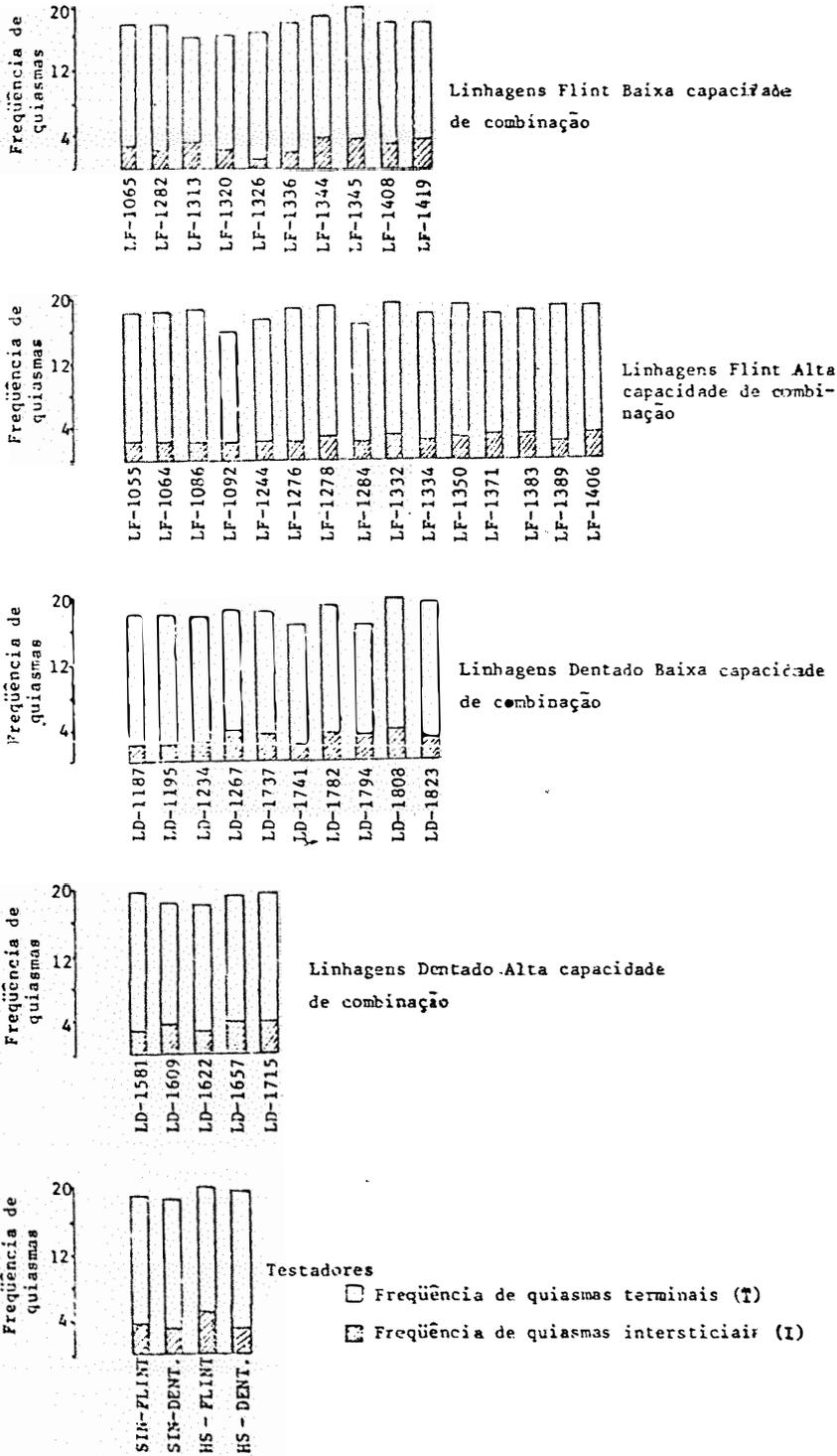


Figura 8. Distribuição da frequência de quiasmas por microsporócito (T+I), frequência de quiasmas terminais (T) e frequência de quiasmas intersticiais (I) nas linhagens e testadores

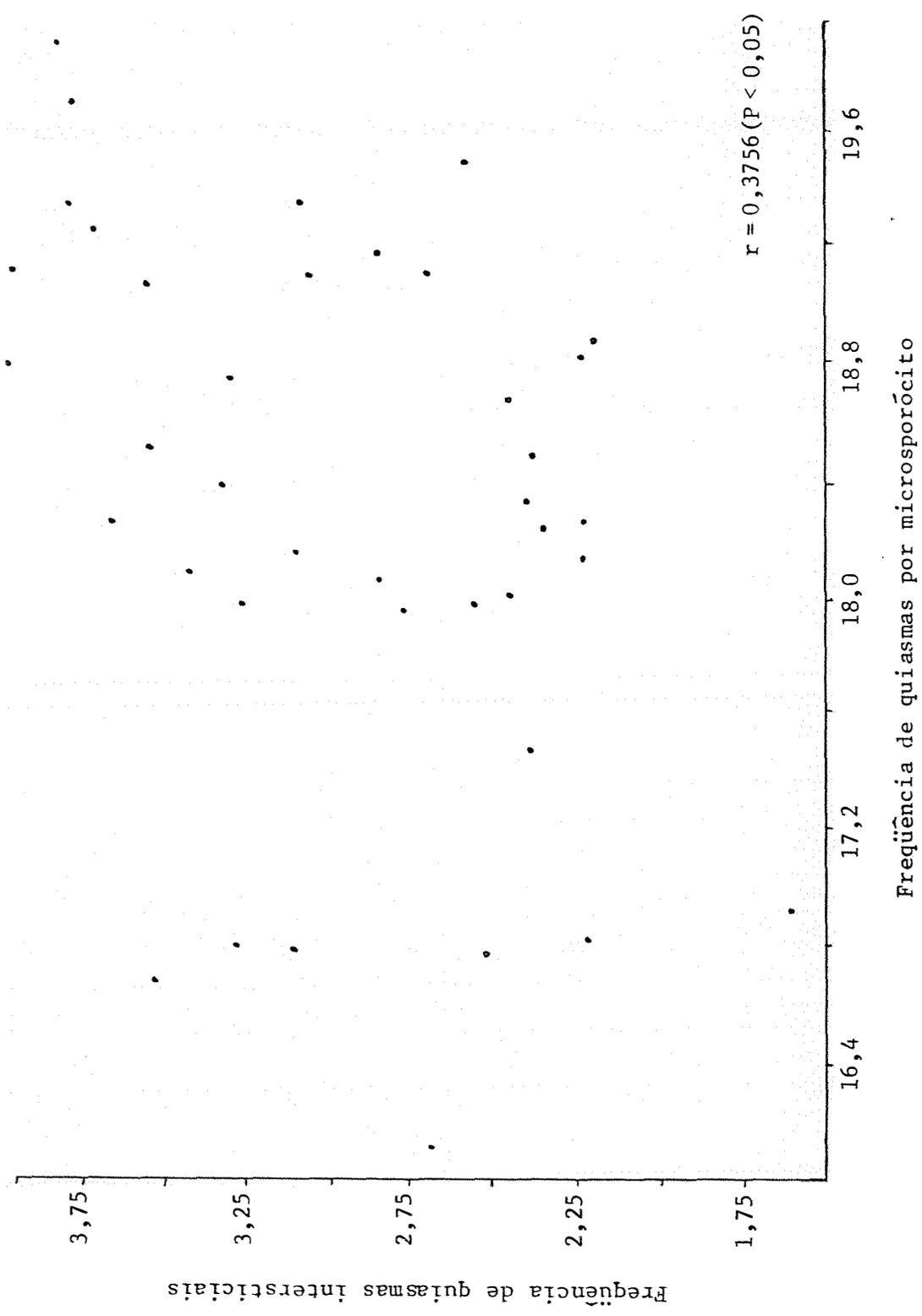


Figura 9. Frequência de quiasmas por microsporócito e frequência de quiasmas intersticiais

4.3. Cromossomos univalentes

4.3.1. Ocorrência de cromossomos univalentes

Durante a análise citológica para contagem de quiasmas avaliouse a frequência de cromossomos univalentes. A Tabela 16 mostra a distribuição de tais cromossomos entre as 10 plantas e entre as 200 células analisadas em cada linhagem, bem como o número de células com um, dois ou mais pares de univalentes por célula. Observa-se que as linhagens diferem entre si na frequência de cromossomos univalentes. Algumas linhagens são totalmente destituídas de tais cromossomos enquanto outras os apresentam em alta frequência, chegando a um nível de 25% das células serem portadoras de univalentes. Pela Tabela 16 pode-se verificar que tanto as linhagens de baixa capacidade de combinação quanto as de alta capacidade de combinação são portadoras de univalentes. Contudo, quando se observa esta Tabela verifica-se que os univalentes são mais abundantes nas linhagens de baixa capacidade de combinação e isto ocorre tanto a nível de frequência de célula quanto a nível de frequência de planta. Na Tabela 16 pode-se verificar que são muito mais abundantes as células que apresentam um único par de univalentes, enquanto que a condição com dois ou mais pares é rara.

É oportuno lembrar que dentre os quatro testadores, somente o SIN-DENT-PB-GR apresentou cromossomos univalentes, porém, em baixa frequência. Somente duas plantas portavam tais cromossomos.

A Tabela 26 apresenta os dados da frequência de quiasmas por microsporócitos e os dados sobre o número de células e plantas com cromossomos univalentes. Analisando-se esta Tabela, verifica-se que em todos

os casos onde a frequência de quiasmas por microsporócito foi baixa, a frequência de univalentes foi alta. A Figura 10 mostra haver uma correlação negativa ($r = -0,7699$, $P < 0,001$) entre frequência de quiasmas por microsporócito e frequência de univalentes, ou seja, à medida que há uma redução na frequência de quiasmas, há um aumento na frequência de cromossomos univalentes.

Na Tabela 26 também podem ser comparados os dados da frequência de quiasmas intersticiais e do número de células com univalentes. Pode-se observar que não há correlação entre estes dois caracteres, pois algumas linhagens com alta frequência de univalentes mostraram alta frequência de quiasmas intersticiais, enquanto outras linhagens mostraram baixa frequência de quiasmas intersticiais. Por outro lado, linhagens com ausência ou baixa frequência de univalentes também mostraram ampla variação na frequência de quiasmas intersticiais. A correlação entre estes dois caracteres foi muito pequena ($r = -0,2428$, ns) (Figura 11).

Pelo exposto, observa-se que alta frequência de univalentes não está associada com baixa frequência de quiasmas intersticiais, mas está associada com baixa frequência de quiasmas por microsporócitos.

4.3.2. Comportamento meiótico dos cromossomos univalentes

Durante a preparação das lâminas para a contagem de quiasmas na diacinese, muitas lâminas foram feitas e muitas fases da meiose foram observadas. A observação de que muitas plantas que apresentavam muitos cromossomos univalentes na diacinese não mostravam as mesmas proporções de anormalidade nas fases posteriores, despertou a curiosidade de se

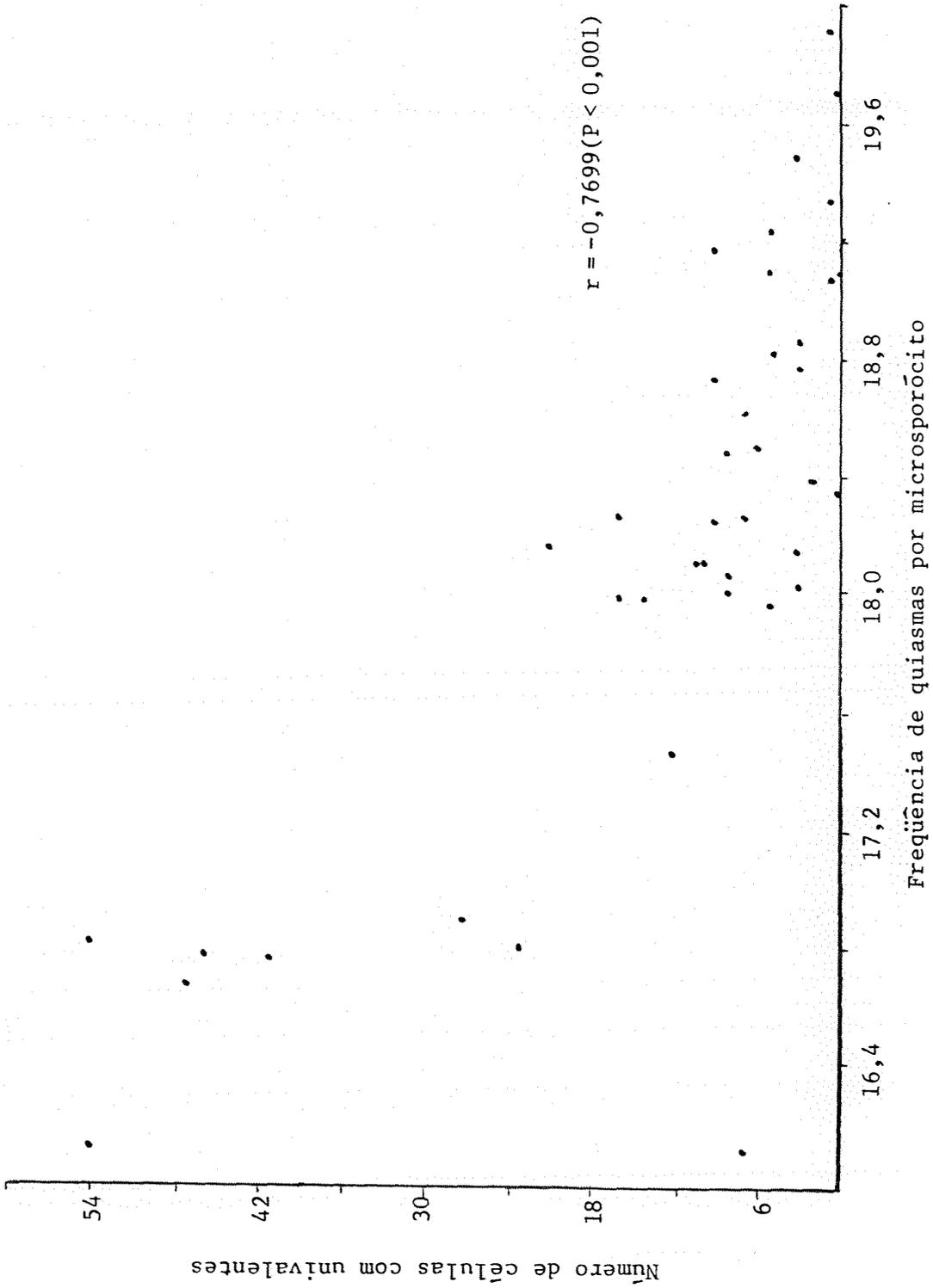


Figura 10. Frequência de quiasmas por microsporócito e número de células com univalentes

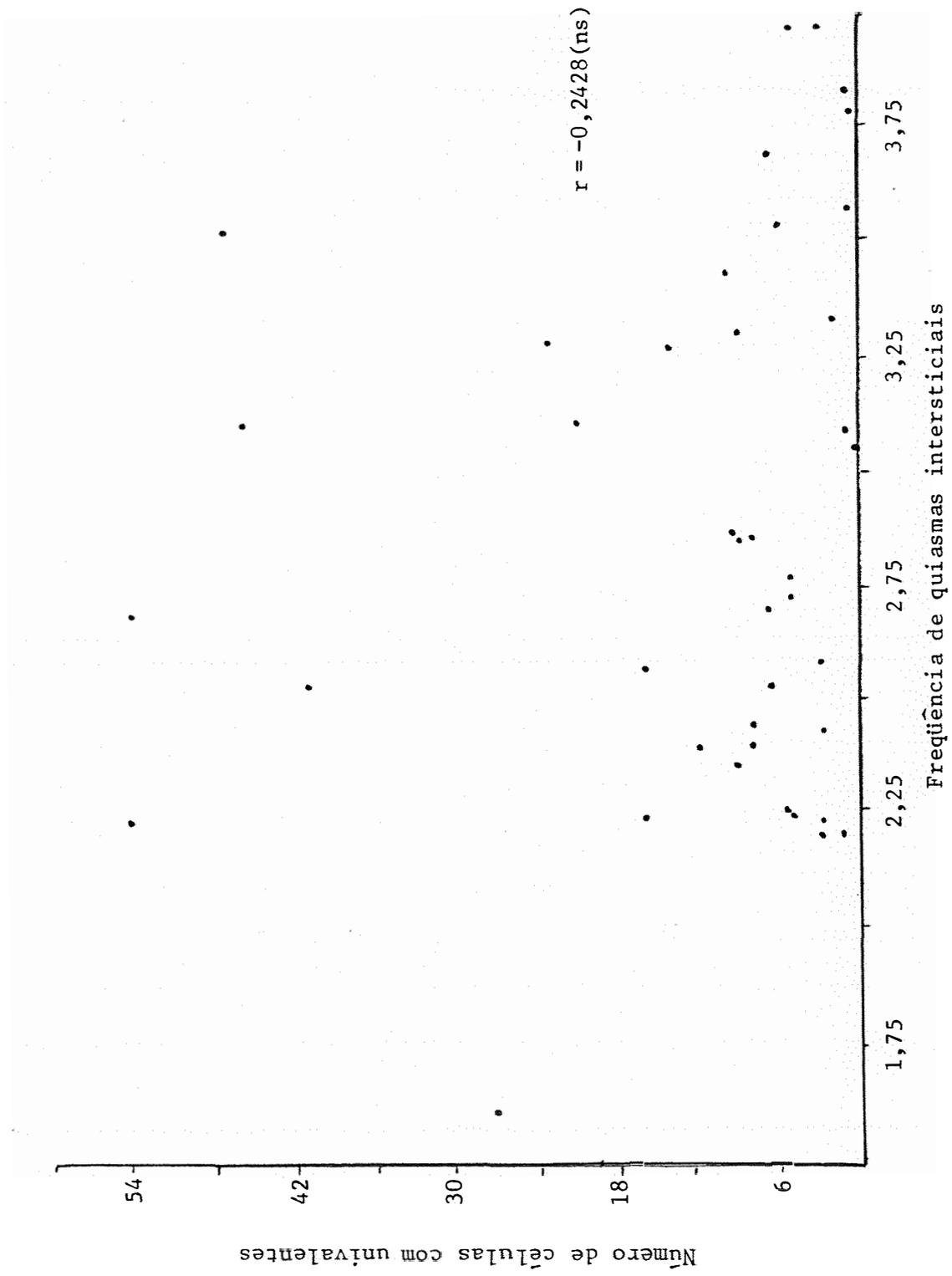


Figura 11. Frequência de quiasmas intersticiais e número de células com univalentes

analisar o comportamento dos cromossomos univalentes durante a meiose. Como a análise de todo o processo meiótico em um grande número de células é muito demorada, resolveu-se eleger algumas linhagens que apresentavam maior frequência de cromossomos univalentes para se fazer tal análise. Para esta análise foram escolhidas as linhagens LF-1320, LF-1092, LF-1284 e LD-1741, que apresentaram por volta de 25% de suas células com cromossomos univalentes (Tabela 16). As Tabelas 17, 18, 19 e 20 mostram o comportamento dos cromossomos univalentes nas linhagens LF-1320, LF-1092, LF-1284 e LD-1741, respectivamente. Durante a análise meiótica observou-se o comportamento dos cromossomos univalentes com relação à ascensão precoce e tardia para os pólos, não-disjunção e formação de micronúcleos na telófase I e nas tétrades. As fases da meiose II não foram avaliadas por não ser possível realizar a contagem de cromossomos com segurança em todas as células.

A Figura 12 mostra o comportamento dos cromossomos univalentes durante a meiose I. Observa-se que tais cromossomos podem ter ascensão precoce ou tardia associada ou não a não-disjunção. Os cromossomos que chegam precoce ou tardiamente aos pólos podem não ser incluídos nos núcleos e formar micronúcleos em um ou em ambos os pólos.

As Tabelas 17, 18, 19 e 20 mostram a percentagem de células por planta que apresentaram cromossomos univalentes e que, conseqüentemente, apresentaram anormalidades meióticas. Para as quatro linhagens observa-se que a percentagem de metáfases I normais é bem maior que a de metáfases anormais. O mesmo ocorre para as anáfases I e telófases I. Nestas Tabelas é importante observar a percentagem de células que apresentam ascensão precoce e tardia associadas ou não a não-disjunção. Quando este

Figura 12. Comportamento dos cromossomos univalentes durante a meiose.

- a) Microsporócito em diacinese mostrando um par de cromossomos univalentes.
- b) Microsporócito em metáfase I mostrando ascensão precoce para um par de cromossomos com disjunção regular.
- c) Microsporócito em metáfase I mostrando ascensão precoce para dois pares de cromossomos com disjunção regular.
- d) Microsporócito em metáfase I mostrando ascensão precoce e não-disjunção para um par de cromossomos.
- e) Microsporócito em anáfase I mostrando 11 cromossomos em um pólo e 9 no outro.
- f) Microsporócito em anáfase I mostrando 12 cromossomos em um pólo e 8 no outro.
- g) Microsporócito em telófase I mostrando micronúcleo em um pólo.
- h) Microsporócito em telófase I mostrando 2 cromossomos não despiralizados em um pólo.

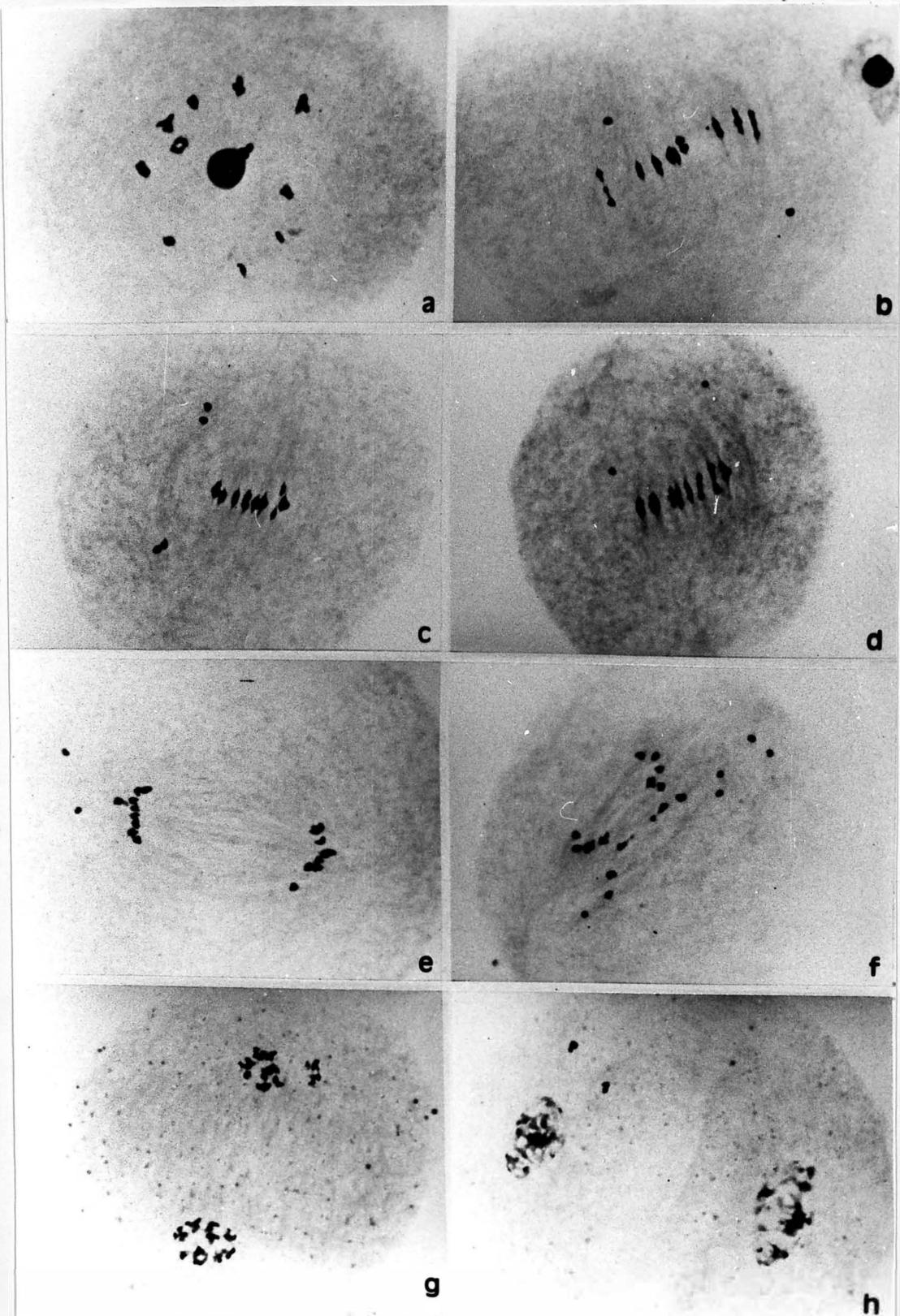


FIGURA 12

fenômeno ocorre, os cromossomos univalentes poderão ou não ser incluídos no núcleo. Caso não sejam incluídos no núcleo, formarão micronúcleos. As Tabelas 17, 18, 19 e 20 mostram que a percentagem de células com micronúcleos é bem inferior à esperada com base na percentagem de células com anormalidades nas fases anteriores. A Figura 13 mostra claramente este fato. Este acontecimento sugere que grande parte dos univalentes que ascenderam precoce ou tardiamente para os pólos foram incluídos no núcleo. A observação da meiose II, embora não apresentada nas Tabelas acima citadas, revelou ausência de micronúcleos. Dentre todas as plantas analisadas nas quatro linhagens, somente uma planta na linhagem LF-1320 apresentou uma baixa percentagem (0,94%) das tétrades com micronúcleos.

Outro fato muito importante a ser observado nas Tabelas 17, 18, 19 e 20 é a ascensão precoce ou tardia de cromossomos associada a não-disjunção. Observa-se que não-disjunção foi comum tanto na metáfase I quanto na anáfase I nas quatro linhagens, tendo sido elevada em algumas plantas.

Como as inflorescências foram colhidas em fase ideal para estudos meióticos, não foi possível correlacionar estas anormalidades observadas com a fertilidade do pólen nas linhagens analisadas.

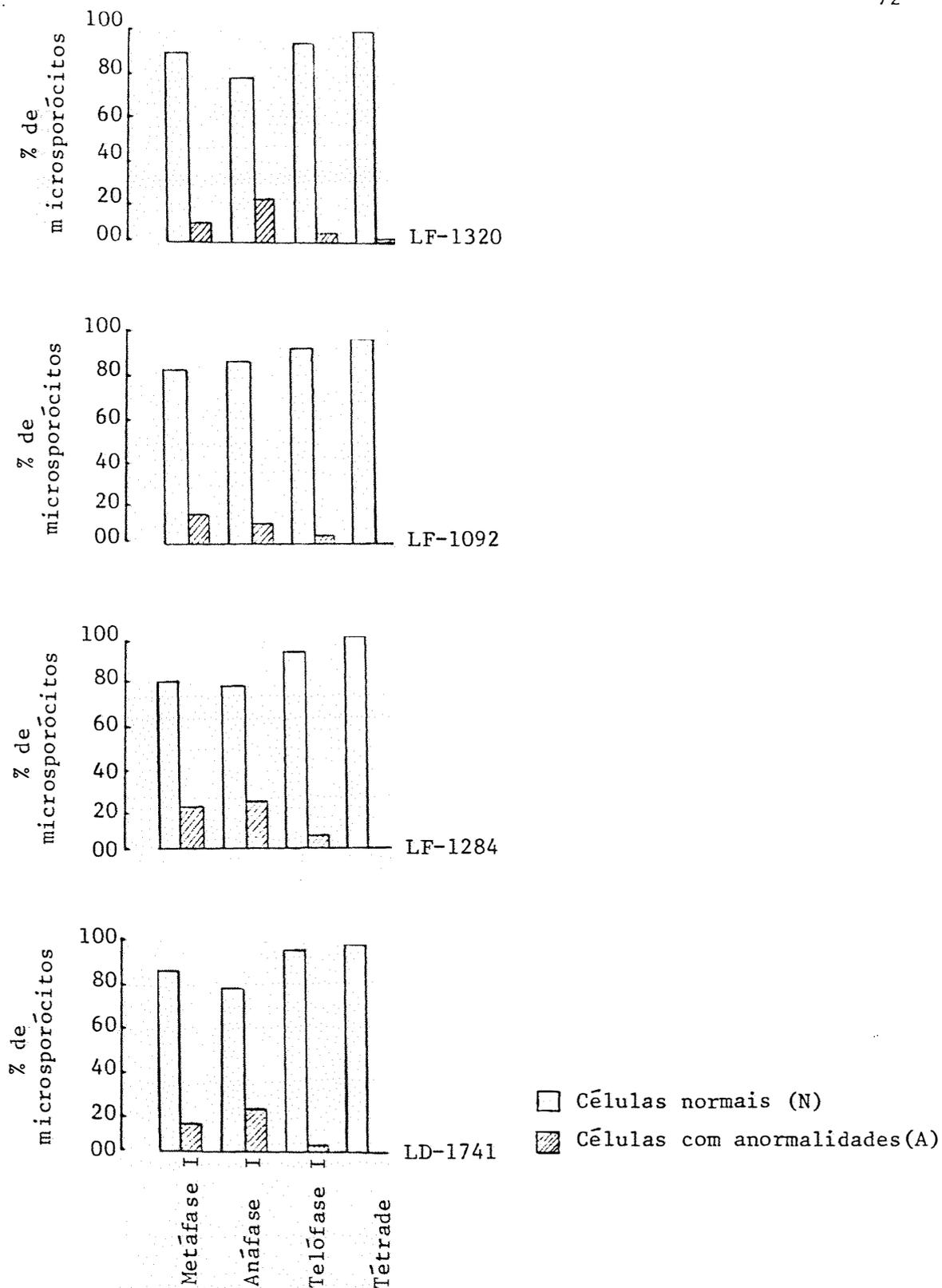


Figura 13. Percentagem de microsporócitos com meiose normal (N) e com anormalidades (A) nas linhagens LF-1320, LF-1092, LF-1284 e LD-1741

4.3.3. Frequências de cromossomos univalentes e capacidade de combinação

Foi demonstrado (Tabela 4) que as linhagens com alta e baixa capacidade de combinação, tanto Flint quanto Dentado, diferem entre si na frequência de quiasma por microsporócito, sendo que as linhagens com baixa capacidade de combinação mostram tendência em apresentar menor frequência de quiasmas. Por outro lado, à medida que a frequência de quiasmas diminui, há um aumento na frequência de univalentes, conforme mostra a Figura 10. Assim achou-se interessante averiguar se a frequência de univalentes mostrava alguma associação com a capacidade de combinação. Os histogramas construídos com o número de células com cromossomos univalentes em cada linhagem (Figura 14), mostram claramente que as linhagens com baixa capacidade de combinação, tanto Flint quanto Dentado, apresentam maior frequência de cromossomos univalentes que as linhagens com alta capacidade de combinação. Esta associação entre cromossomos univalentes e capacidade de combinação foi estatisticamente confirmada através do teste de χ^2 . Este teste demonstrou que tanto para as linhagens Flint ($P < 0,01$, Tabela 21) quanto para as linhagens Dentado ($P < 0,001$, Tabela 22), a capacidade de combinação não foi independente da frequência de univalentes. Em outras palavras, os resultados sugerem que a capacidade de combinação de uma linhagem parece ser afetada pela frequência de univalentes.

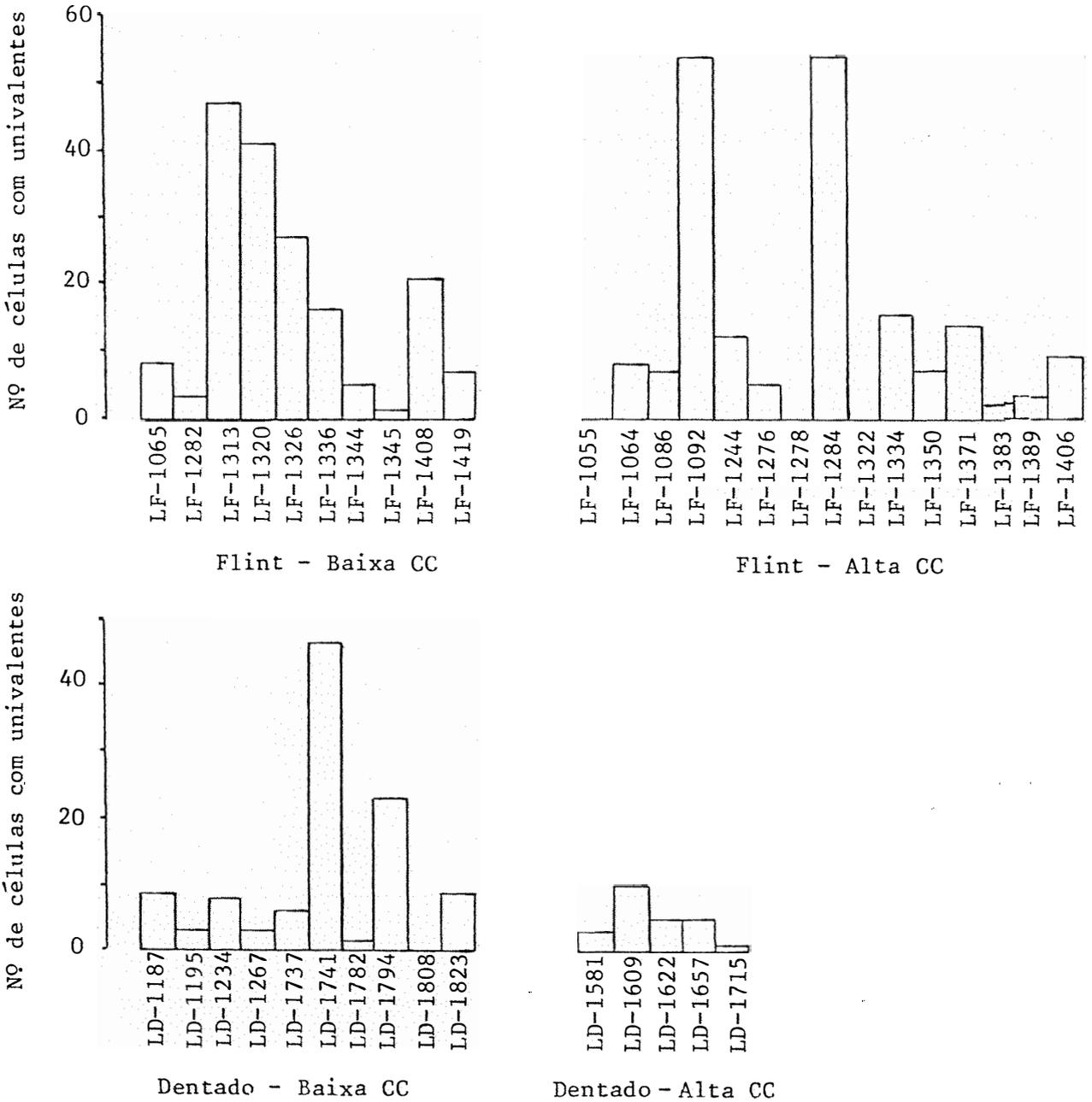


Figura 14. Distribuição do número de células com cromossomos univalentes nas linhagens Dentado e Flint com alta e baixa capacidade de combinação

4.4. Anormalidades meiôticas

Durante a análise citológica foi observado que algumas plantas de algumas linhagens apresentaram algumas anormalidades meiôticas. Estes variantes meiôticos serão aqui descritos.

4.4.1. Quebras cromossômicas

4.4.1.1. Fragmentos na diacinese

Uma planta da linhagem LD-1823 com baixa capacidade de combinação apresentou fragmentos. Tais fragmentos apareciam especificamente na fase de diacinese e ocorriam em todas as células. A quebra envolveu, aparentemente, sempre o mesmo par de cromossomos (cromossomo grande) e localizou-se sempre no mesmo local. Os dois cromossomos do par de homólogos eram afetados pela quebra e sempre em posições homólogas. Os paquítenos (Figura 15A) e diplôtenos analisados nunca apresentaram sinais do local de quebra. Na diacinese, a região onde a quebra deveria ocorrer aparecia uma constrição muito evidente (Figura 15C e D). Em muitos casos foi possível observar constrição em um cromossomo do par de homólogos e fragmento já separado correspondente ao outro cromossomo do par (Figura 15B). Em outros casos, foram observados os fragmentos dos dois homólogos já distanciados do bivalente quebrado (Figura 15C). Quando um ou dois fragmentos estavam isolados de seu bivalente, não raro observava-se separação cromatídica completa ou em fase inicial (Figura 15D).

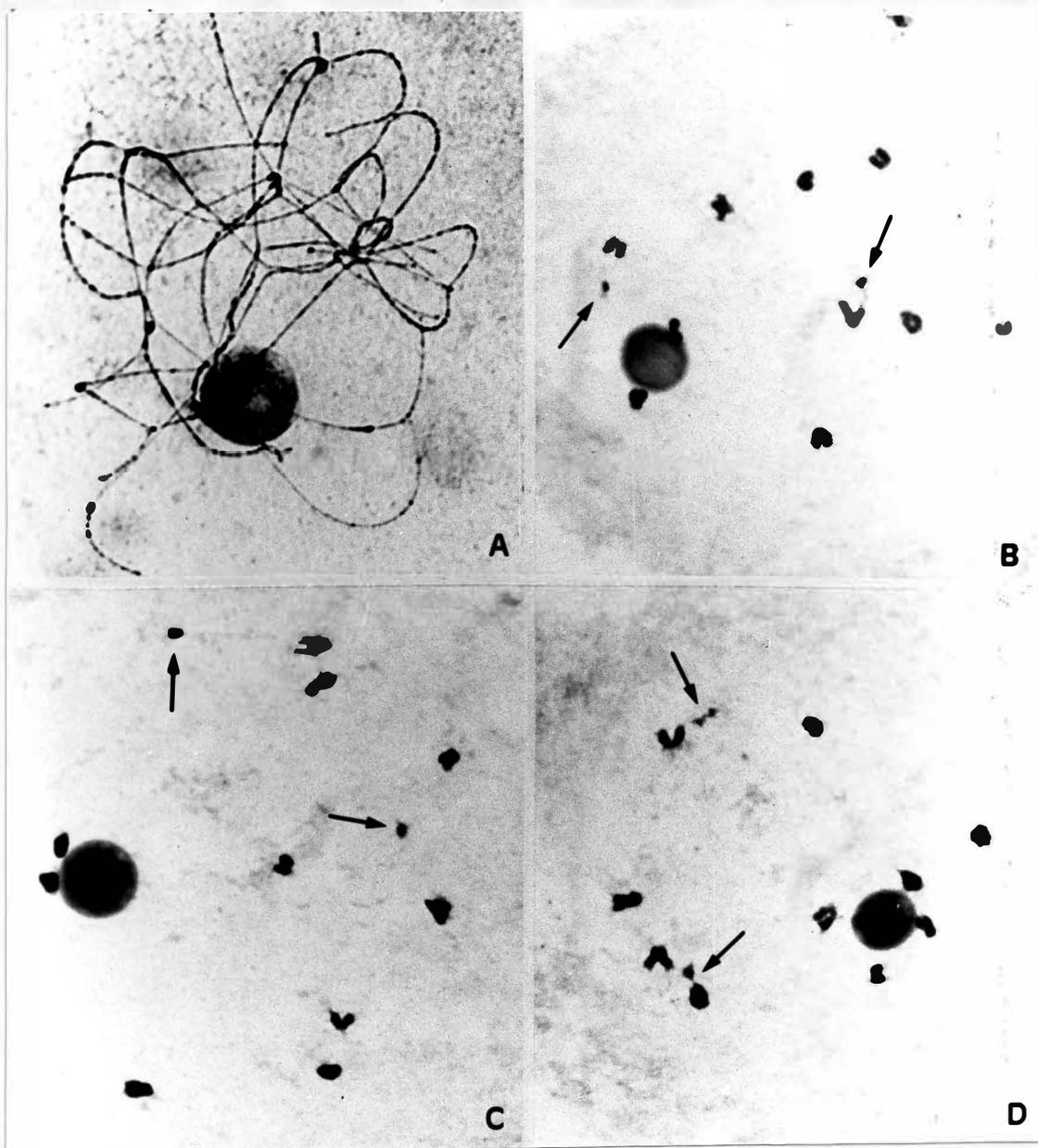


Figura 15. Microsporócitos da linhagem LD-1823 mostrando quebra cromossômica. A) Paquíteno normal, não evidenciando pontos de quebras. B) Diacinese mostrando uma constrição em um cromossomo do par de homólogos e fragmento já separado correspondente ao outro membro do par. C) Diacinese mostrando os dois fragmentos já distanciados do bivalente. D) Diacinese mostrando uma constrição em um dos homólogos e um fragmento em início de separação cromatídica

Os fragmentos facilmente visualizados na diacinese nunca foram observados nas demais fases da meiose. Pontes na anáfase I e micronúcleos na telófase I também nunca foram observados. As tétrades não mostraram micronúcleos. A fertilidade do pólen não pôde ser avaliada em virtude da inflorescência ter sido coletada em fase ideal para estudos meióticos. Assim, possíveis efeitos desta quebra sobre a fertilidade do pólen ou sobre o fenótipo da planta são desconhecidos.

4.4.1.2. Pontes e fragmentos na anáfase

Uma planta da linhagem LD-1741 com baixa capacidade de combinação mostrou pontes e fragmentos na anáfase I e na anáfase II. Os fragmentos acêntricos observados na anáfase I e II variavam em tamanho. Tais fragmentos eram ainda observados na telófase e, geralmente, localizavam-se na região equatorial. A Tabela 23 mostra os tipos de anormalidades encontradas e a percentagem de células observadas em cada uma dessas fases. A Figura 16, mostrando pontes e fragmentos, ilustra algumas das anormalidades.

4.4.2. Fuso divergente

Na linhagem LF-1320 com baixa capacidade de combinação todas as dez plantas analisadas apresentaram anormalidades no fuso de divisão. Tratava-se de uma forma de fuso alongado. Em alguns casos, os cromossomos ocupavam quase toda a extensão da placa equatorial na metáfase I. Observava-se, desde a metáfase I, que as fibras do fuso pareciam ser paralelas e não convergentes para os pólos, como é a forma normal (Figura 17A).

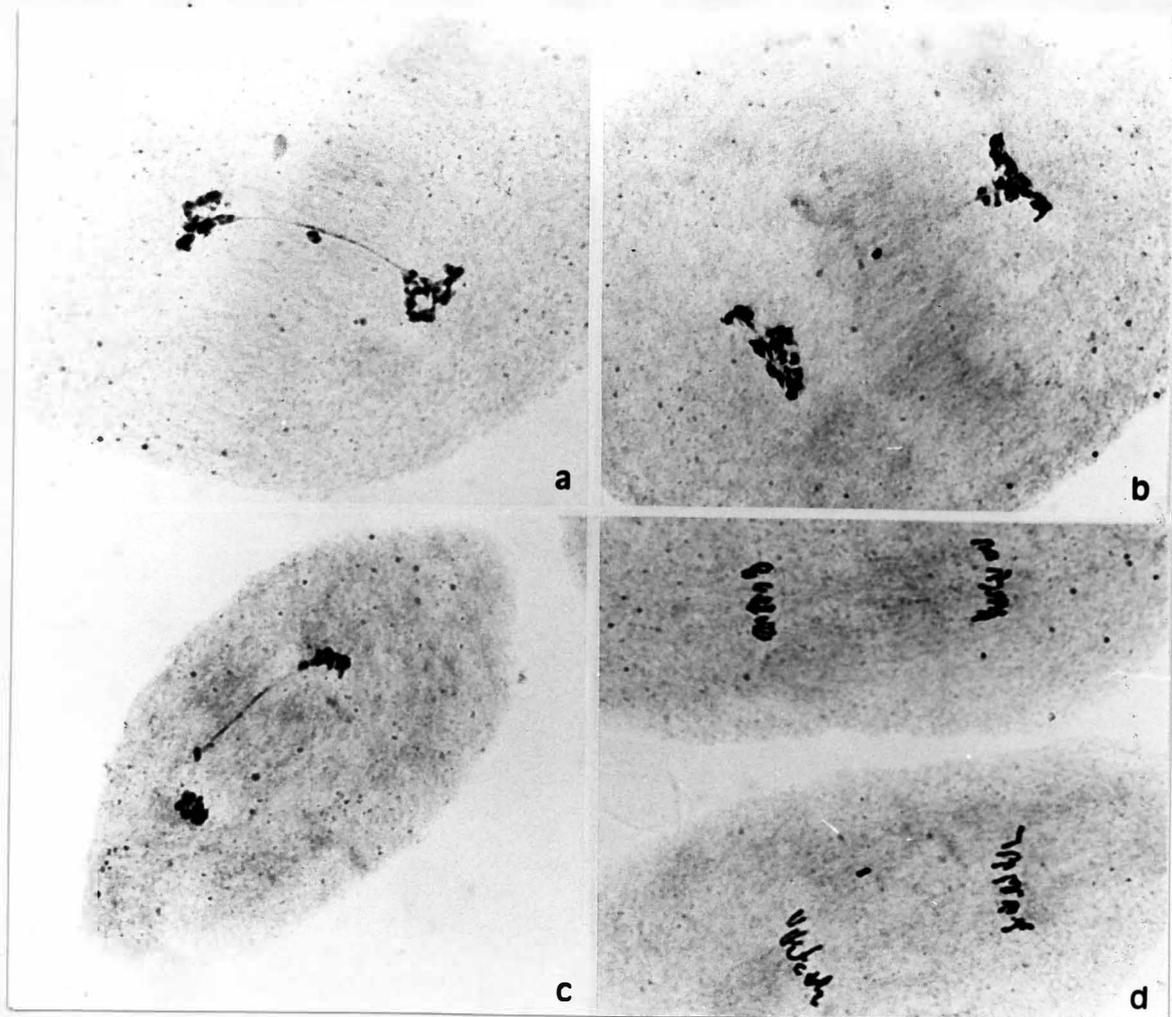


Figura 16. Microsporócitos com pontes e fragmentos na linhagem LD-1741. a) uma ponte e um fragmento acêntrico na anáfase I; b) um fragmento acêntrico na região equatorial na telófase I; c) uma ponte em uma célula na anáfase II; d) um fragmento acêntrico em uma célula na anáfase II

Durante a anáfase I os cromossomos ascendiam para os pólos de forma paralela (Figura 17B). Como os cromossomos chegavam aos pólos mantendo uma certa distância entre si (Figura 17C), núcleos telofásicos alongados (Figura 17D) ou vários núcleos (Figuras 17E e 17F) podiam ser observados. Na telófase II também foram observados alguns núcleos alongados, mostrando que a mutação afeta também esta fase. Algumas tétrades mostraram irregularidades como micrócitos ou micrósoros com micronúcleos (Figura 17H).

Nesta linhagem todas as dez plantas analisadas foram afetadas por esta mutação, mostrando uma penetrância de 100%. Contudo, com relação à expressividade os resultados foram variáveis. Entre as dez plantas analisadas, a percentagem de núcleos alongados não foi a mesma em cada planta. Em algumas plantas, as células com fusos alongados podiam chegar a 50%, enquanto em outras, a percentagem de tais núcleos era muito baixa, por volta de 3%. Dentro de uma mesma planta, nem todas as anteras apresentavam também a mesma expressividade. Tornava-se difícil distinguir os núcleos normais (esféricos) dos núcleos alongados, pois havia um gradiente de formas entre estes dois extremos (Figura 17G). Considerando-se este gradiente de formas, tornou-se impossível avaliar com precisão a percentagem de núcleos alongados.

Figura 17. Microsporócitos da linhagem LF-1320 mostrando fuso divergente.

- A) Metáfase I mostrando cromossomos ocupando grande extensão da placa equatorial e com tendência de ascensão não convergente para os pólos.
- B) Anáfase I mostrando cromossomos bem distanciados e paralelos entre si.
- C) Final de anáfase I mostrando cromossomos bastante distanciados.
- D) Telófase I mostrando um único núcleo alongado em cada pólo.
- E) Telófase I mostrando um macronúcleo e um micronúcleo em cada pólo.
- F) Telófase I mostrando um macronúcleo e dois micronúcleos em um pólo e dois pequenos núcleos no outro pólo.
- G) Grupo de microsporócitos em telófase I mostrando núcleos desde o esférico (normal) ao alongado.
- H) Tétrade mostrando dois micrósoros com micronúcleos.

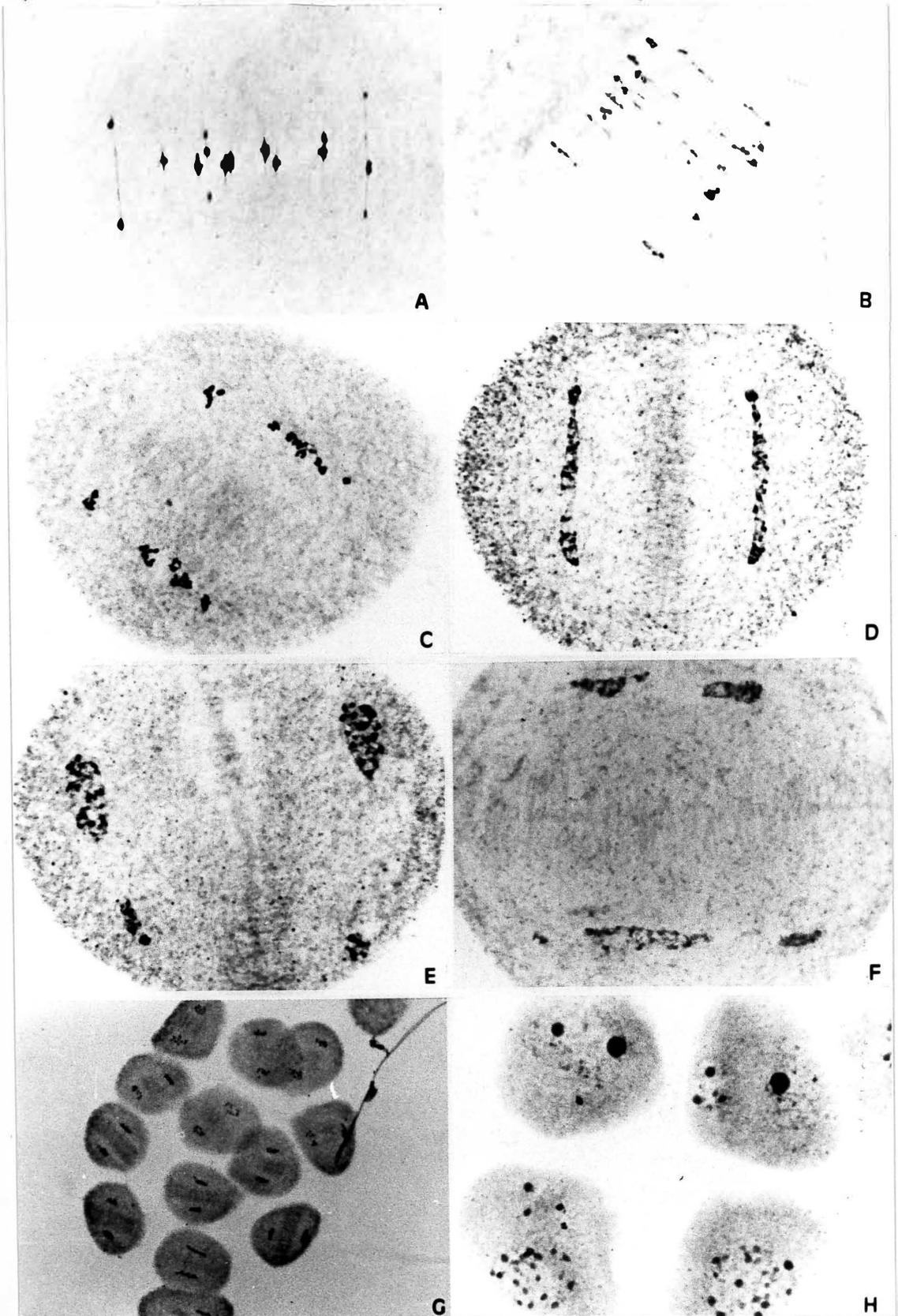


FIGURA 17

4.4.3. Fusão celular

Uma planta da linhagem LD-1741, com baixa capacidade de combinação, mostrou fusão celular. Duas formas de fusão foram observadas: uma em que as células meióticas fundidas não mostravam fusão nuclear e outra em que as células mostravam variações no número de cromossomos, sugerindo ter havido fusão em fases pré-meióticas. Estes dois fenômenos foram distintos.

As células que apresentavam variação no número de cromossomos estavam sempre próximas e nunca mostraram conexões entre elas. Tornou-se impossível descrever todos os tipos de alterações observadas. A Figura 18 mostra algumas das variações observadas durante as análises. Na Figura 18A pode-se observar que as células com número de cromossomos além do normal apresentavam tamanho maior que as normais, enquanto que as células anucleadas apresentavam tamanho inferior ao normal. Células destituídas de nucléolo, células com dois ou mais nucléolos ou células que apresentavam apenas nucléolo foram freqüentes (Figuras 18A e B). Em células com mais de um genoma, observava-se que alguns cromossomos podiam se apresentar em estado de supercontração e aglomerados (Figuras 18C, D e E), ou mesmo sofrendo desintegração (Figura 18F).

Estas células com variação no número de cromossomos foram observadas desde as fases iniciais da prófase I até a diacinese. Após esta fase, estas células não foram mais observadas. O número de células que mostrou variação para o número de cromossomos esteve por volta de 2% por antera.

Figura 18. Microsporócitos da linhagem LD-1741 apresentando variações no número de cromossomos.

- A e B) Conjuntos de microsporócitos em sub-fases da prófase I mostrando variações no número de cromossomos. Algumas células apresentam dois nucléolos, enquanto outras não apresentam nenhum.
- C e D) Microsporócitos em paquíteno mostrando supercondensação de cromossomos e diferenças no tamanho do nucléolo adicional e número de cromossomos ligados a eles.
- E) Microsporócito mostrando ampla variação em número e estado de condensação dos cromossomos.
- F) Microsporócito aparentemente com três conjuntos cromossômicos destituídos de nucléolos, onde dois conjuntos parecem estar sofrendo desintegração.

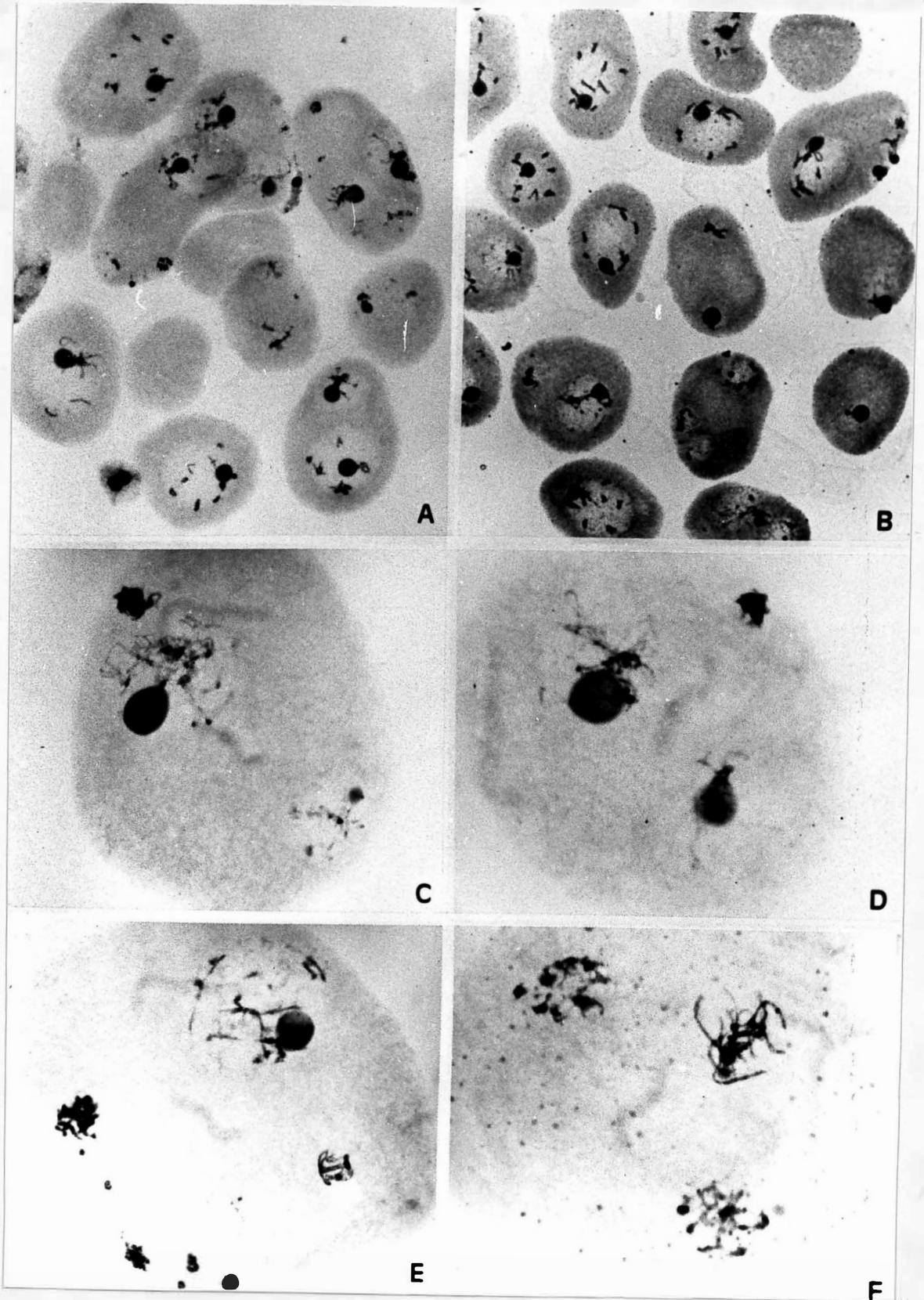


FIGURA 18

O fenômeno da fusão celular sem fusão nuclear foi observado desde as fases iniciais da prófase I até a telófase I (Figura 19). Não foram encontradas células fundidas em meiose II. O número de células envolvidas no processo de fusão variou de 2 a 11, formando verdadeiros sincícios. Em alguns casos, a fusão se deu através de pontes citoplasmáticas (Figura 19F). Em cada sincício todos os lotes cromossômicos se encontravam na mesma fase de divisão e apresentavam número de cromossomos normal. Somente em um caso foi observada fusão de dois microsporócitos em diacinese, que portavam três discretos conjuntos de cromossomos em metáfase I (Figura 19F). Neste caso, os cromossomos em metáfase estavam separados, sendo que dois grupos apresentavam 20 univalentes e o outro grupo 40 univalentes. Em todos os sincícios observados, cada conjunto de cromossomos mantinha-se individualizado, organizando-se em um fuso durante a divisão (Figura 19C, D e E). A frequência de fusão celular foi baixa, estando por volta de 1,0 a 3,0% por antera analisada.

Embora a ocorrência de fusão celular só tenha sido observada durante a meiose I, não quer dizer que não tenha persistido durante a meiose II, principalmente no caso de fusão celular sem fusão nuclear, pois sincícios em telófase I foram frequentemente observados. A existência da continuidade destes fenômenos é sugerida pela presença de micrósporos anormais. A Figura 20 mostra alguns aspectos sobre a formação de micrósporos nesta planta. Micrósporos enormes com um ou dois núcleos de mesmo tamanho ou não e micrósporos com dois ou mais nucléolos mostram que a divisão meiótica não foi totalmente normal, devendo inclusive, ter havido fusão nuclear nas fases finais da meiose. Estes micrósporos anormais

Figura 19. Microsporócitos da linhagem LD-1741 apresentando fusão celular.

A) Fusão de microsporócitos em paquíteno.

B) Fusão de microsporócitos em diacinese.

C) Fusão de microsporócitos em metáfase I.

D) Fusão de microsporócitos em anáfase I.

E) Fusão de microsporócitos em telófase I.

Note-se a presença de pontes citoplasmáticas.

F) Fusão de dois microsporócitos em diacinese, apresentando três lotes de cromossomos em metáfase, estando tais cromossomos na forma de univalentes. Um destes lotes apresenta 40 univalentes.

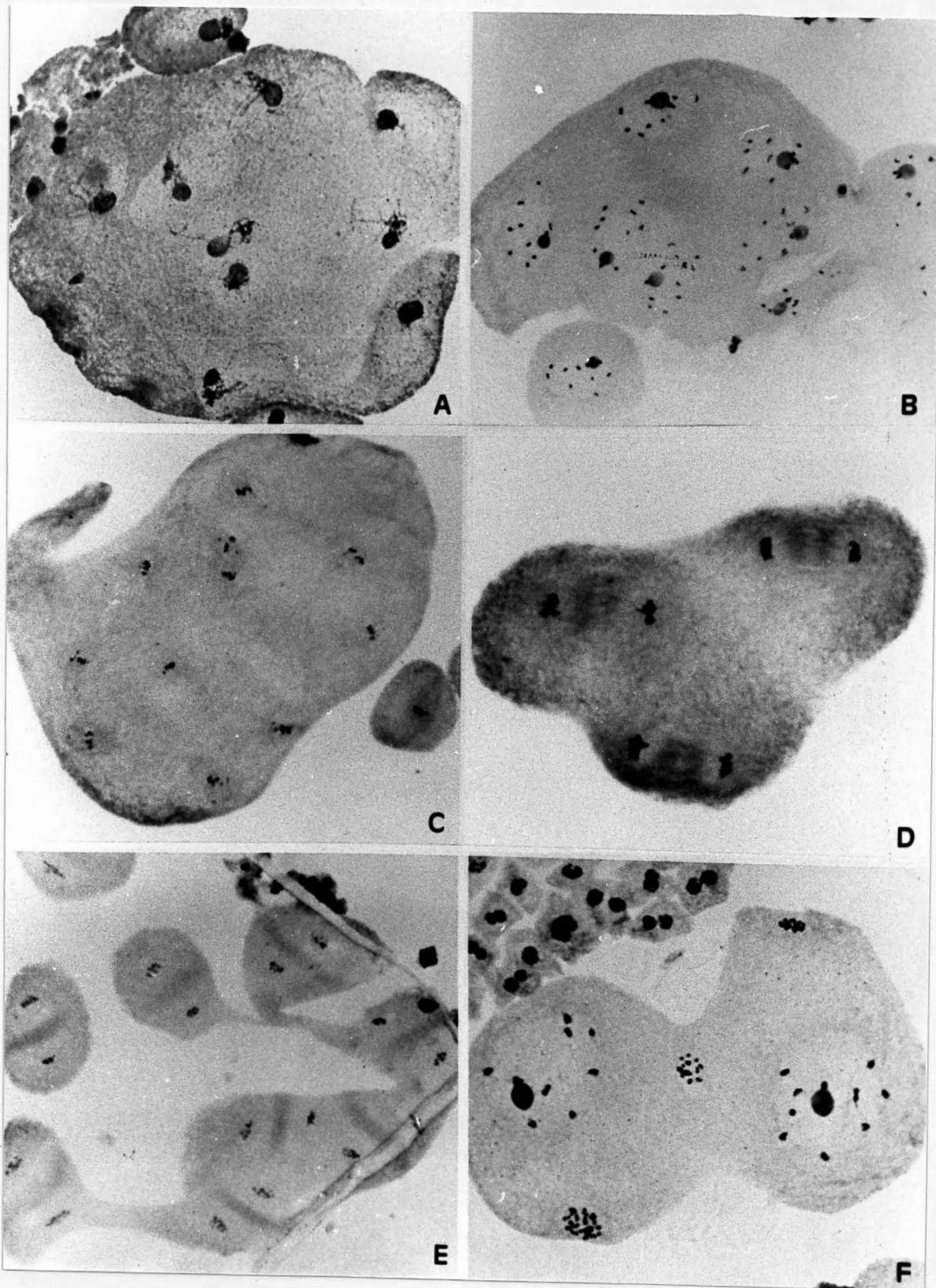


FIGURA 19

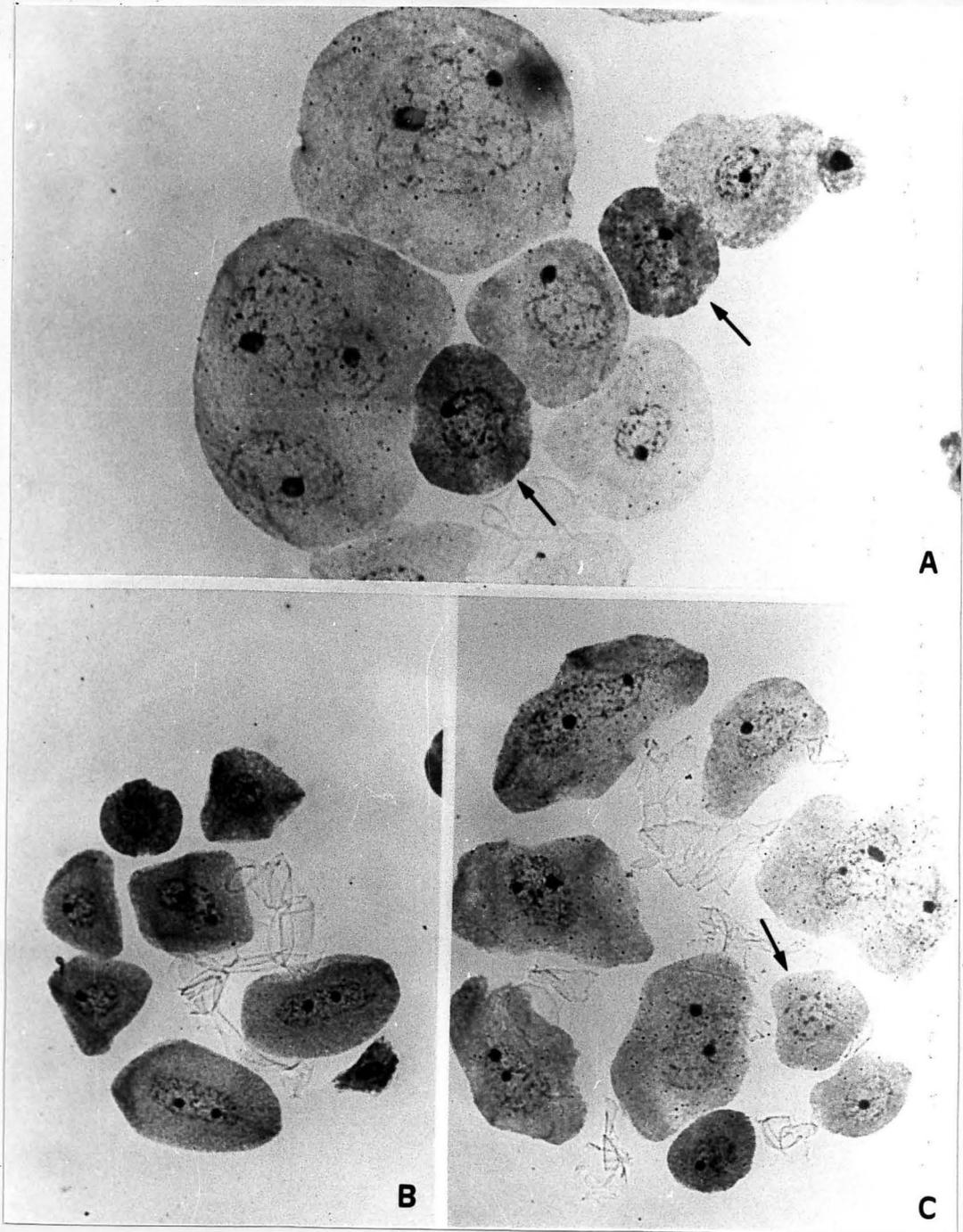


Figura 20. Micrôsporos da linhagem LD-1741.

A) Conjunto de micrôsporos mostrando irregularidades em tamanho, número e forma de núcleo, número de nucléolos e coloração em relação aos normais.

B e C) Conjunto de micrôsporos anormais, provavelmente resultante da divisão de um único sincício. Em c observa-se um micrôsporo sem nucléolo

apareciam sempre em grupos, sugerindo serem produto final da meiose de um único sincício. O número de micrôsporos nestes casos, obviamente, era superior a quatro, número esperado em meiose normal. Estes micrôsporos anormais coravam-se mais fracamente que aqueles supostos normais oriundos de células que não sofreram fusão celular.

4.4.4. Assincronia na meiose

Na preparação dos microsporócitos utilizou-se apenas uma antera por lâmina. Dentro de uma antera é comum encontrar-se todos os microsporócitos em uma única fase da meiose. Entretanto, em alguns casos mais que uma fase da meiose pode ser observada entre os microsporócitos de uma antera. Isto é denominado de assincronia na meiose. Durante as análises citológicas observou-se que algumas plantas de algumas linhagens mostraram meiose assincrônica. Os dados de assincronia são apresentados na Tabela 24, onde se observa que houve maior assincronia entre as linhagens de baixa capacidade de combinação.

4.5. Cromossomos B

Durante a análise citológica observou-se que a linhagem LF-1350 e a linhagem LD-1715 apresentaram cromossomos B (Figura 21). Ambas as linhagens são de alta capacidade de combinação. Na LF-1350, dentre as dez plantas analisadas, oito apresentaram cromossomos B (Tabela 25) e na LD-1715 somente quatro plantas apresentaram estes cromossomos acessórios (Tabela 25). Na planta nº 10 da LF-1715 encontraram-se oito cromossomos B.

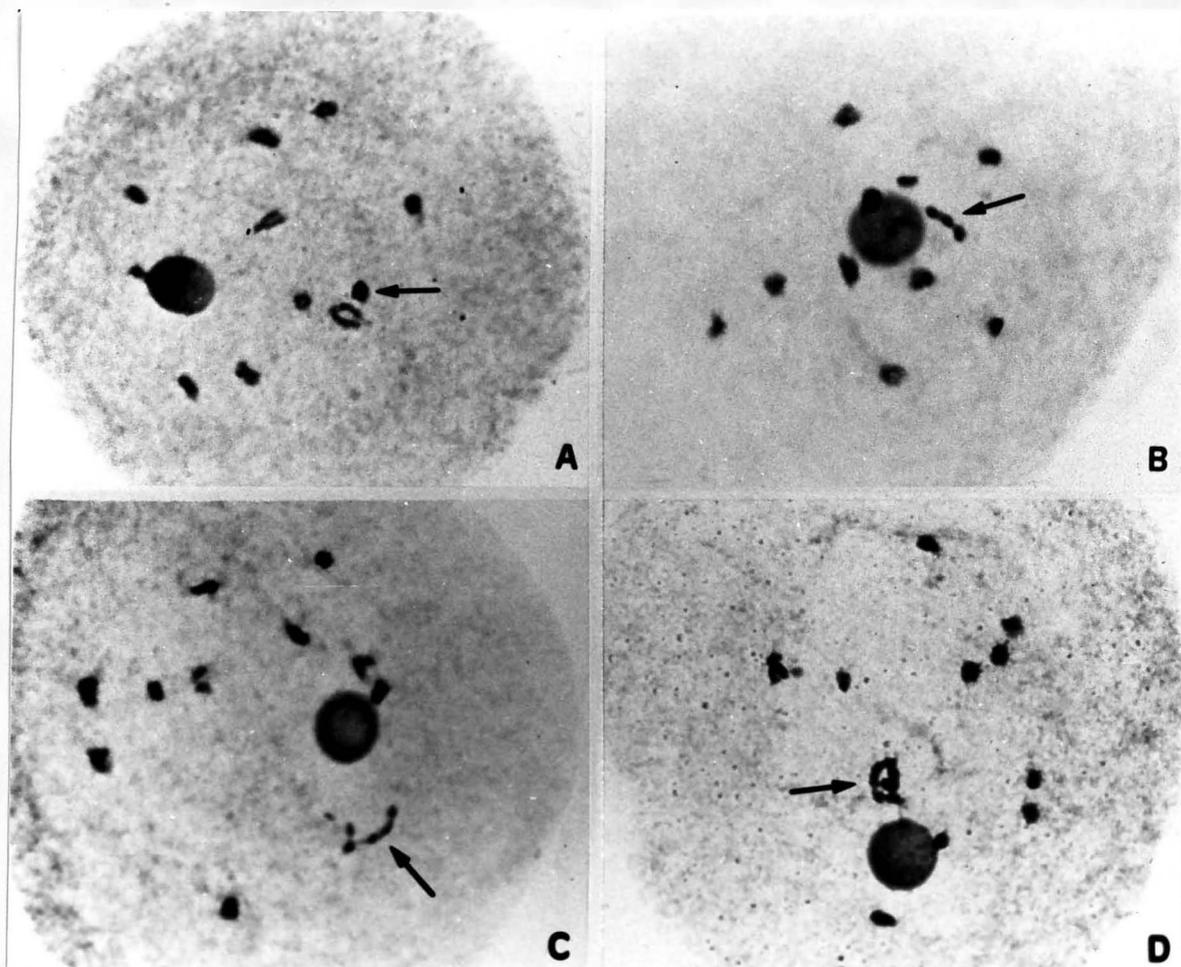


Figura 21. Microsporócitos com cromossomos B

- A) Diacinese na linhagem LD-1715 com 10 bivalentes e 2 cromossomos B associados.
- B) Diacinese na linhagem LD-1715 com 10 bivalentes e 3 cromossomos B associados.
- C) Diacinese na linhagem LF-1350 com 10 bivalentes e 5 cromossomos B associados.
- D) Diacinese na linhagem LD-1715 com 10 bivalentes e 8 cromossomos B associados.

Os resultados apresentados na Tabela 25 sugerem que a frequência de quiasmas não foi afetada pela presença destes cromossomos.

4.6. Análise da frequência de quiasmas em genótipos com diferentes graus de heterozigose plantados em diferentes anos agrícolas

Como se observaram diferenças entre as linhagens Flint e Dentado selecionadas para alta e baixa capacidade de combinação com relação à amplitude de variação na frequência de quiasmas entre e dentro de plantas, achou-se conveniente testar se esta variação seria causada por influência ambiental ou por segregação gênica. Sem dúvida, o ideal seria usar as mesmas linhagens S₇ utilizadas para correlacionar frequência de quiasmas com capacidade de combinação. Entretanto, um experimento deste tipo demandaria mais alguns anos de trabalho para a obtenção do material. Como dispúnhamos do material de um experimento previamente planejado, no qual as linhagens S₄ utilizadas tinham a mesma origem das linhagens S₇ aqui analisadas, decidiu-se usar este material já coletado. Para os objetivos propostos, analisaram-se seis linhagens (três Dentado e três Flint), plantadas em três anos agrícolas. Os resultados foram comparados com quatro grupos de genótipos que diferiam entre si e das linhagens no grau de heterozigose e que, no caso, serviram como testemunhas.

Os resultados obtidos das comparações entre estes diferentes grupos genotípicos são apresentados na Tabela 9, que mostra a frequência total de quiasmas e os coeficientes de variação entre e dentro de plantas.

A análise da variância (Tabela 10) mostrou que existem diferenças significativas ($P < 0,01$) na frequência de quiasmas entre os tratamentos do grupo 1 (híbridos duplos), do grupo 2 (híbridos simples), do grupo 3 (híbridos "top-crosses") e do grupo 6 (linhagens Dentado). Dentro do grupo 4 (compostos) e do grupo 5 (linhagens Flint) não houve diferença entre os tratamentos. Quando se avaliou a interação "época x tratamento/grupo" os resultados foram muito interessantes. Somente os tratamentos do grupo 5 (linhagens Flint) mostraram interação com a época de plantio ($P < 0,01$). Nos demais grupos nenhuma interação foi observada.

Como no grupo 5 houve interação, as três linhagens deste grupo foram analisadas separadamente em análises de variâncias individuais a fim de se detectar quais tratamentos interagiram com as épocas de plantio. A análise de variância para a linhagem LF-1559 (Tabela 11) mostrou diferença significativa ($P < 0,01$) entre as três épocas de plantio, sendo que somente para a época III houve incremento na frequência de quiasmas. Para a linhagem LF-1584 nenhuma época favoreceu o aumento na frequência de quiasmas (Tabela 12). Contudo, para a linhagem LF-1562 (Tabela 13) diferença significativa ($P < 0,01$) foi encontrada entre a época I e a época III, sendo que na época III houve maior frequência de quiasmas, da mesma forma que na linhagem LF-1559.

Embora não tenha havido diferença significativa na frequência de quiasmas entre as três épocas de plantio para os genótipos heterozigóticos, o mesmo não foi observado com relação à variação na frequência de quiasmas entre plantas. A Tabela 9 mostra que o coeficiente de variação entre plantas foi muito variável para as três épocas de plantio, tanto

para os genótipos homozigóticos quanto para os heterozigóticos. Em se tratando da variação na frequência de quiasmas entre células dentro de plantas, a situação foi um pouco diferente. Os coeficientes de variação dentro (Tabela 9) mostram que não houve grande variação para cada genótipo entre cada época de plantio. A análise da variância das variâncias (Tabela 14) revelou que somente os tratamentos do grupo 4 ($P < 0,05$), grupo 5 e grupo 6 ($P < 0,01$) diferiram entre si. Contudo, quando se avaliou a interação "época x tratamento/grupo" observou-se que somente os tratamentos do grupo 5 mostraram diferença significativa na estabilidade para frequência de quiasmas ($P < 0,05$). Observando-se a Tabela 9, pode-se verificar que esta interação deve ter sido causada pela linhagem LF-1559 que mostrou grande variabilidade para frequência de quiasmas entre as três épocas de plantio, demonstrando maior susceptibilidade às influências ambientais.

5. DISCUSSÃO

5.1. Frequência de quiasmas em linhagens

5.1.1. Frequência de quiasmas por microsporócito

A diferença na frequência de quiasmas entre linhagens de mesma origem, como foi observado tanto entre as 25 linhagens Flint originadas do Composto Flint-PB, quanto entre as 15 linhagens Dentado originadas do Composto Dentado-PB (Tabela 3) pode ser explicada com base no tipo de herança para frequência de quiasmas. O controle genético da frequência de quiasmas, estudado em algumas espécies animais e vegetais, tem se mostrado operar de acordo com um modelo de herança poligênica (REES & THOMPSON, 1958; CHINICCI, 1971a,b; DAYAL, 1977b; PAGLIARINI, 1980; LEIN & LELLEY, 1987).

Considerando-se a frequência de quiasmas um caráter poligênico, torna-se fácil entender que linhagens extraídas de uma mesma população, quando submetidas a alguns ciclos de autofecundação, possam apresentar diferentes frequências de quiasmas. Variações, inclusive drásticas,

na freqüência de quiasmas entre linhagens de mesma origem têm sido observadas em centeio (LAMM, 1936; MÜNTZING & AKDIK, 1948; REES & THOMPSON, 1955), *Lolium perenne* (KARP & JONES, 1982), rabanete (DAYAL, 1977a) e milho (ZECEVIC, 1960, 1962; VILLAMIZAR, 1976; PAGLIARINI, 1980, 1983; PAGLIARINI *et alii*, 1986a). No presente estudo, apesar das linhagens estarem com sete ciclos de autofecundação, a diferença na freqüência de quiasmas entre as linhagens de mesma origem foi de 16,12 na LF-1092 a 19,89 na LF-1345 para as linhagens Flint extraídas do Composto Flint-PB e de 16,78 na LD-1741 a 19,70 na LD-1808 para as linhagens Dentado extraídas do Composto Dentado-PB. Variações muito mais drásticas em linhagens de milho extraídas de uma mesma população já foram observadas por VILLAMIZAR (1976) e PAGLIARINI (1983). As linhagens Flint e Dentado aqui em estudo foram selecionadas de um lote de 264 linhagens S₄ do Composto Flint-PB e 364 linhagens S₄ do Composto Dentado-PB, respectivamente. Dentre os 628 híbridos "top-crosses" foram selecionadas 50 linhagens Flint e 50 linhagens Dentado. É provável que nesta seleção de linhagens, aquelas que foram descartadas por não possuírem características agronômicas desejáveis, possuíssem também baixa freqüência de quiasmas, pois em estudos preliminares em linhagens de milho (PAGLIARINI, 1983 e PAGLIARINI *et alii*, 1986a) verificou-se que linhagens com baixa capacidade de combinação tendem a mostrar menor freqüência de quiasmas. Assim, esta seleção pode ter contribuído para a eliminação de alguns genótipos que poderiam apresentar freqüências de quiasmas mais baixas que as aqui observadas.

5.1.1.1. Correlação entre freqüência de quiasmas por microsporócito e capacidade de combinação

Inúmeros trabalhos têm sido desenvolvidos em diferentes espécies vegetais na tentativa de correlacionar freqüência de quiasmas com parâmetros populacionais como longevidade (REES & AHMAD, 1963; SUN & REES, 1964; CROWLEY, 1969), adaptabilidade varietal (DAS & JAIN, 1972; FAYAD *et alii*, 1984) e caracteres de produtividade (MÜNTZING & AKDIK, 1948; HILLEL *et alii*, 1973; TEHRANI & WRICKE, 1977; SRIVASTAVA & BALYAN, 1977; SRIVASTAVA, 1980a,b, 1981). Segundo estes autores observou-se: 1) correlação negativa entre freqüência de quiasmas e longevidade; 2) correlação positiva entre adaptabilidade varietal e freqüência de quiasmas; 3) correlação positiva de quiasmas e grande parte dos caracteres agrônômicos avaliados. No entanto, correlação entre freqüência de quiasmas e capacidade de combinação parece ter sido avaliada, até o momento, somente em milho (PAGLIARINI, 1983; PAGLIARINI *et alii*, 1986a). Em ambos os trabalhos observou-se que as linhagens com baixa capacidade de combinação mostraram tendência em apresentar menor freqüência de quiasmas que as linhagens com alta capacidade de combinação. Nesta pesquisa, conforme demonstrou a Tabela 3, também houve diferença significativa entre as linhagens de baixa e alta capacidade de combinação, sendo que tanto para as linhagens FLint, quanto para as linhagens Dentado, as linhagens com baixa capacidade de combinação mostraram menor freqüência de quiasmas comprovando, mais uma vez, os resultados preliminarmente obtidos.

Frente a repetibilidade dos resultados apresentados acima, surge uma indagação: - Qual será a relação entre frequência de quiasmas e capacidade de combinação? Pode-se tentar responder a esta indagação em termos de promoção de variabilidade genética. Os quiasmas são considerados a expressão citológica da permuta genética. Logo, baixa frequência de quiasmas mostraria que um número menor de eventos de recombinação ocorreu e menor quantidade de variabilidade genética foi liberada. Correlação positiva entre frequência de quiasmas e adaptabilidade varietal foi encontrada em trigo (DAS & JAIN, 1972) e em *Vicia faba* (FAYED *et alii*, 1984). Em ambos os casos sugeriu-se que a ocorrência de um grande número de eventos de permuta genética liberaria maior variação através da recombinação de genes intimamente ligados, alguns dos quais poderiam mostrar maior grau de adaptação sob mudanças ambientais. Sugestões semelhantes foram dadas por SRIVASTAVA & BALYAN (1977), SRIVASTAVA (1980a, 1981) ao analisarem linhagens e híbridos de feijão e milho. Considerou-se que a heterose observada para caracteres quantitativos nos híbridos foi devida a heterose também observada para frequência de quiasmas, onde um aumento de variabilidade genética ocorreu. Frente às correlações positivas entre frequência de quiasmas e caracteres agrônômicos importantes, SRIVASTAVA (1981) sugere que a frequência de quiasmas serviria como um dos índices de seleção para melhorar a eficiência de seleção simultânea para genótipos altamente produtivos no campo.

No caso em estudo, há, contudo, que se considerar que as linhagens analisadas possuíam sete ciclos de autofecundação. Assim, provavelmente, deveriam apresentar alto grau de homozigose e a recombinação

entre cromossomos homólogos poderia, então, não ser efetiva na produção de variabilidade genética. Os melhoristas acreditam que as linhagens que mostram melhor capacidade de combinação são aquelas que possuem maior grau de homozigose. Dentre deste contexto, não somente a recombinação seria ineficaz, como também seria indesejável. Obviamente, outros fatores estão envolvidos na capacidade de combinação. Um deles parece ser a presença de cromossomos univalentes que será discutida mais adiante.

5.1.1.2. Variação na freqüência de quiasmas

Os resultados aqui obtidos para a variação na freqüência de quiasmas entre plantas não concordam com os já encontrados em milho. PAGLIARINI (1983) e PAGLIARINI *et alii* (1986a) observam que as linhagens com baixa capacidade de combinação mostravam tendência em apresentar maior variação na freqüência de quiasmas entre plantas. As linhagens Flint com alta e baixa capacidade de combinação apresentaram mais ou menos o mesmo comportamento (Figura 1) para a variação na freqüência de quiasmas entre plantas, enquanto que as linhagens Denta do com alta capacidade de combinação parecem ter mostrado maior estabilidade para este caráter que as de baixa capacidade de combinação.

Variações na freqüência de quiasmas entre plantas dentro de linhagens de mesma origem já foram descritas em outras espécies (REES & THOMPSON, 1956; PANTULU & MANGA, 1972; DAYAL, 1977a; PAGLIARINI, 1980,

1983; PAGLIARINI *et alii*, 1986a; LEIN & LELLEY, 1987). REES & THOMPSON (1956) consideraram que esta variação na frequência de quiasmas entre plantas dentro de linhagens, cujos genótipos individuais são supostos serem semelhantes ao do grupo, é devida a diferenças não herdáveis. Sugeriram que estas diferenças surgem através de variações nas condições ambientais sob as quais as plantas crescem. Entretanto, tem-se observado (PAGLIARINI, 1980, 1983; PAGLIARINI *et alii*, 1986a) que linhagens de milho de mesma origem, cultivadas sob as mesmas condições ambientais, mostraram variações na estabilidade para frequência de quiasmas entre plantas, sugerindo que outros fatores pudessem estar envolvidos.

Frente a estes resultados, resolveu-se estudar melhor este problema da variação na frequência de quiasmas entre plantas. Para tal, comparou-se a frequência de quiasmas em cinco grupos genotípicos que diferiam entre si no grau de heterozigose, plantados em três épocas. O objetivo fundamental era verificar se as condições ambientais exercem alguma influência sobre a frequência de quiasmas e sobre a variação na frequência de quiasmas entre e dentro de plantas e se genótipos com diferentes níveis de heterozigose podem ser diferentemente afetados.

Os resultados obtidos nestas análises (Tabela 10), mostraram que somente duas linhagens Flint, LF-1559 (Tabela 11) e LF-1562 (Tabela 13), mostraram interação com a época de plantio para frequência de quiasmas. Os demais genótipos não mostraram variação significativa na frequência de quiasmas em virtude da época de plantio. Estes resultados mostram que algumas linhagens apresentam um genótipo para frequência de quiasmas susceptível a mudanças ambientais, enquanto outras linhagens e os genótipos heterozigóticos parecem não mostrar susceptibilidade alguma, pelo

menos nas condições testadas, que não foram muito contrastantes. Estabilidade na frequência de quiasmas em híbridos simples de milho, cultivados em diferentes épocas e locais, foi descrita por PAGLIARINI & AGUIAR-PERECIN (1983).

Embora as análises tenham demonstrado interação da frequência de quiasmas com época de plantio somente para duas linhagens, o mesmo não ocorreu com a variação na frequência de quiasmas entre plantas. O coeficiente de variação entre plantas (Tabela 9) mostrou que houve grande variação para estabilidade na frequência de quiasmas para quase todos os genótipos analisados, fossem eles homozigóticos ou heterozigóticos. Na literatura sempre tem sido descrito que os genótipos heterozigóticos mostram maior estabilidade para frequência de quiasmas que os homozigóticos (REES & THOMPSON, 1956; PANTULU & MANGA, 1972; DAYAL, 1977a; PAGLIARINI, 1980; PAGLIARINI *et alii*, 1986b; LEIN & LELLEY, 1987). Estes resultados sempre foram obtidos analisando-se apenas uma época de plantio. No presente estudo, quando foram comparados os resultados de três épocas de plantio, verificou-se que a frequência de quiasmas entre plantas pode variar enormemente tanto nos genótipos homozigóticos quanto nos heterozigóticos, frente às condições ambientais.

Com relação à variação na frequência de quiasmas entre células dentro de plantas, observou-se que não houve diferença entre os grupos de alta e baixa capacidade de combinação (Tabela 4), mostrando que este caráter não está associado com capacidade de combinação. Entretanto, as linhagens Flint com baixa capacidade de combinação mostraram diferenças entre si ($P < 0,01$). Diferenças para estabilidade na frequência de

quiasmas entre células dentro de plantas, em linhagens de mesma origem, foram descritas por REES & THOMPSON (1955), VILLAMIZAR (1976) e PAGLIARINI (1980). REES & THOMPSON (1956) consideraram que a variabilidade na frequência de quiasmas entre células de uma mesma planta de determinadas linhagens seria devida a diferenças citoplasmáticas entre células. Neste aspecto, esta variabilidade poderia ser diferente entre as linhagens, de modo que diferentes genótipos poderiam apresentar diferentes graus de estabilidade. Por outro lado, VILLAMIZAR (1976) observou que as linhagens que mostravam instabilidade na frequência de quiasmas, apresentavam também meiose assincrônica. Admitiu que a instabilidade na formação de quiasmas deveria ser uma consequência da assincronia, pois a contagem do número de quiasmas poderia ser feita em diacineses cujos bivalentes estariam apresentando diferentes graus de terminalização. No entanto, PAGLIARINI (1980) observou que uma linhagem com meiose assincrônica se mostrou estável na formação de quiasmas, enquanto outras linhagens com meiose sincrônica mostraram instabilidade neste caráter. No presente estudo, as Figuras 1 e 2 e a Tabela 24 mostram que não houve associação entre sincronia na meiose e estabilidade para frequência de quiasmas dentro de plantas. Isto leva a sugerir que os fatores que condicionam instabilidade na formação de quiasmas são independentes dos que causam assincronia.

O estudo da estabilidade da frequência de quiasmas dentro de plantas é bastante interessante. ZARCHI *et alii* (1972) consideraram que a instabilidade na frequência de quiasmas teria implicações evolutivas, pois uma planta com baixa variância formaria gametas com um grau uniforme de recombinação, enquanto que uma planta com alta variância formaria alguns gametas com pouca recombinação e outros com altos eventos de

recombinação. Esta diferença entre os dois tipos de gametas poderia ter valor adaptativo.

Frente a este possível valor adaptativo e considerando que as causas da instabilidade da frequência de quiasmas são ainda desconhecidas, este caráter foi também melhor avaliado no experimento onde se utilizou os cinco grupos genotípicos que diferiam no grau de heterozigose, plantados em três anos agrícolas. Os resultados obtidos mostraram que somente as linhagens Flint (grupo 5), exatamente aquelas que mostraram interação entre frequência de quiasmas e época de plantio, apresentaram interação entre estabilidade para frequência de quiasmas dentro de plantas e época de plantio ($P < 0,05$). Quando se analisa a Tabela 9, pode-se verificar que esta interação deve ter sido causada pela linhagem LF-1559, que mostrou maior estabilidade para formação de quiasmas na época III.

Diante de tais resultados, observa-se que, exceto a linhagem LF-1559, os demais genótipos, fossem eles homozigóticos ou heterozigóticos, demonstraram estabilidade na formação de quiasmas em qualquer uma das épocas de plantio. Há, contudo, que se considerar que as condições climáticas não foram muito contrastantes entre as três épocas de plantio (Tabela 2). Tais contrastes climáticos, talvez não tenham tido magnitude suficiente para melhor discriminar a estabilidade dos genótipos frente a mudanças ambientais.

5.1.2. Frequência de quismas intersticiais

Quando se considera a permuta genética como uma fonte de variabilidade, tem-se que admitir que a quantidade de recombinação promovida por este evento depende não somente da frequência do mesmo, mas também do local onde a permuta ocorre. Dentro deste contexto, no presente estudo avaliou-se a frequência de quismas intersticiais com o objetivo de averiguar se as linhagens com alta capacidade de combinação diferiam das linhagens de baixa capacidade de combinação, baseando-se em duas hipóteses: 1) as linhagens com alta capacidade de combinação poderiam apresentar maior frequência de quismas intersticiais como fonte de maior variabilidade genética; 2) as linhagens com alta capacidade de combinação poderiam apresentar menor frequência de quismas intersticiais como forma de manter em equilíbrio de ligação blocos gênicos que poderiam conferir aumento na capacidade de combinação.

Os resultados obtidos não mostraram consistência a favor de nenhuma das hipóteses acima. Apesar de ter havido diferença significativa entre as linhagens de alta e baixa capacidade de combinação ($P < 0,01$, Tabela 5), tanto para as linhagens Dentado quanto para as Flint, os resultados foram contraditórios. No grupo Flint, as linhagens com baixa capacidade de combinação mostraram menor frequência de quismas intersticiais, enquanto que no grupo Dentado, as linhagens com alta capacidade de combinação foram as que mostraram menor frequência de quismas intersticiais.

Correlação entre frequência de quismas intersticiais e capacidade de combinação parece não ter sido testada, até o momento, em nenhuma espécie. No entanto, estudos realizados em algumas espécies têm

demonstrado alguns resultados interessantes quando a frequência de quiasmas intersticiais foi correlacionada com alguns caracteres agrônômicos. Em duas espécies de trigo, uma autógama (*Triticum longissimum*) e outra alógama (*T. speltoides*), HILLEL *et alii* (1973), demonstraram que dos 36 caracteres analisados, somente alguns mostraram correlação com a frequência de quiasma total. Contudo, quando se tomou somente a quantidade de quiasmas intersticiais como base para os cálculos, correlação significativa foi observada em 40% dos caracteres investigados. Em centeio (TEHRANI & WRICKE, 1977), verificou-se também correlação positiva entre frequência de quiasmas intersticiais e três caracteres agrônômicos importantes. SRIVASTAVA (1980a), observou que em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), os híbridos sempre apresentaram maior frequência de quiasmas intersticiais que as linhagens. Esta heterose para frequência de quiasmas intersticiais esteve correlacionada com heterose para alguns dos caracteres agrônômicos avaliados. O autor considerou que o aumento na frequência de quiasmas intersticiais é importante para combinar segmentos gênicos de cromossomos homólogos levando à recombinação gênica efetiva e promovendo variabilidade na população.

Os valores de coeficiente de variação entre plantas para quiasmas intersticiais (Figuras 4 e 5), sempre muito elevados, devem ser decorrentes pelo menos em parte, da contagem de quiasmas com diferentes graus de terminalização entre plantas. O tema "terminalização de quiasmas" tem sido amplamente discutido na literatura e resultados controversos têm sido encontrados. Evidências experimentais utilizando técnicas que permitem estudar o movimento dos quiasmas têm sido acumuladas contra a

ocorrência de terminalização em alguns organismos (TEASE & JONES, 1978; LOIDL, 1979; KANDA & KATO, 1980; MAUDLIN & EVANS, 1980; IMAI & MORIWAKI, 1982). Em outros organismos, entretanto, estudos têm levado à conclusão de que há terminalização de quiasmas (REES, 1955; VILLARDI, 1984).

Em se tratando de milho, a terminalização já foi descrita em duas ocasiões (MAGUIRE, 1978, 1979). Durante as análises, procurou-se sempre uma padronização de microsporócitos em termos de tamanho do bivalente para evitar que erros causados por se estar avaliando bivalentes com diferentes graus de terminalização de quiasmas fossem cometidos. Todavia, obviamente, não se pode afirmar que todos os bivalentes analisados possuíam exatamente o mesmo grau de condensação cromossômica e terminalização de quiasmas. Assim, pelo menos uma parte da variação observada na frequência de quiasmas intersticiais entre plantas pode ser devida a este fator.

Como a variação na frequência de quiasmas intersticiais entre plantas chegou a níveis muito elevados em algumas linhagens, considerando-se que houve tentativa de se eliminar ao máximo os erros decorrentes da análise de bivalentes com diferentes graus de terminalização, é admissível considerar que grande parte desta variação seja intrínseca do próprio genótipo, como parece ocorrer para a frequência de quiasmas por microsporócito.

Não parece ter havido associação entre capacidade de combinação e variação na frequência de quiasmas intersticiais entre plantas, pois o comportamento do grupo Flint foi diferente do grupo Dentado. Dentre as linhagens Flint, aquelas com alta capacidade de combinação mostraram maior estabilidade na frequência de quiasmas intersticiais entre plantas

(Figura 4). Comportamento inverso foi observado entre as linhagens do grupo Dentado (Figura 5).

Com relação à variação na frequência de quiasmas intersticiais dentro de plantas, a análise da variância das variâncias (Tabela 6) mostrou diferença significativa ($P < 0,01$) somente entre as linhagens Dentado com alta capacidade de combinação. Não houve diferença entre os grupos de alta e baixa capacidade de combinação, sugerindo que a variação na frequência de quiasmas intersticiais dentro de plantas não mostra correlação alguma com capacidade de combinação.

5.1.3. Frequência de quiasmas terminais

Quando se considera a frequência de quiasmas como um indicador do grau de recombinação, medidas separadas devem ser feitas para o número total de quiasmas e para o número de quiasmas terminais. Segundo SYBENGA (1972), quando os quiasmas são estritamente terminais, o organismo, apesar da alta frequência de quiasmas, está efetivamente livre de recombinação. Isto tem uma consequência genética marcante, pois certas regiões cromossômicas que contêm genes que conferem certo valor adaptativo são mantidas em equilíbrio de ligação. Para ZARCHI *et alii* (1972) e HILLEL *et alii* (1973), os quiasmas terminais teriam apenas a função física de manter o bivalente para assegurar a ocorrência de perfeita segregação de cromossomos homólogos.

Dentro do contexto acima, procurou-se neste trabalho, averiguar a existência de diferença para a frequência de quiasmas terminais entre as linhagens de alta e baixa capacidade de combinação. A análise da

variância (Tabela 7) mostrou que não houve diferença significativa entre as linhagens de alta e baixa capacidade de combinação tanto para o grupo Flint quanto para o Dentado, para este caráter. Isto mostra que a frequência de quiasmas terminais é um caráter que não parece estar relacionado com a capacidade de combinação das linhagens.

Quando se avalia a frequência de quiasmas terminais, algumas considerações devem ser feitas sobre este assunto. Ocorre que até há algum tempo os quiasmas terminais ou associações terminais eram consideradas como quiasmas originalmente terminais ou quiasmas terminais resultantes do processo de terminalização. No primeiro caso, como cita SYBENGA (1972), o organismo estaria efetivamente livre de recombinação cromossômica, enquanto que no segundo caso, não. O conhecimento do processo de terminalização de quiasmas em um organismo, sem dúvida alguma, é de fundamental importância para se fazer inferências sobre o grau de recombinação. Neste sentido, em milho, a terminalização de quiasmas já foi demonstrada ocorrer (MAGUIRE, 1978, 1979). Assim, quando se avalia a frequência de quiasmas terminais, é muito provável que se esteja avaliando alguns poucos quiasmas realmente terminais em origem, enquanto outros são resultantes do processo de terminalização.

Uma outra consideração ainda deve ser feita dentro deste assunto. Trata-se das associações terminais aquiasmáticas já observadas em camundongos (IMAI & MORIWAKI, 1982), centeio (CERMEÑO *et alii*, 1984) e *Cryptobothrus chrysophorus* (JOHN & KING, 1985). Em milho, a natureza dos quiasmas originalmente terminais parece ainda não ter sido estudada. Tal estudo poderia mostrar alguns aspectos interessantes, principalmente para

elucidar um tipo comum de configuração de bivalente, característico em alguns genótipos, onde os dois cromossomos homólogos permanecem associados de forma paralela até o final da diacinese, sem se tocar em ponto algum, ou seja, sem que nenhum quiasma característico seja observado. Nestes casos, sempre tem se considerado a existência de dois quiasmas terminais, pois alguma força deve estar mantendo a estrutura do bivalente, caso contrário, seria desfeita.

Tanto para as linhagens Dentado quanto para as linhagens Flint não parece ter havido correlação entre a variação na frequência de quiasmas terminais entre plantas e a capacidade de combinação, pois as linhagens com alta e baixa capacidade de combinação comportaram-se de forma semelhante.

Não se observou diferença significativa na variação da frequência de quiasmas terminais dentro de plantas entre os grupos de alta e baixa capacidade de combinação, sugerindo que estes dois caracteres não estão associados.

5.1.4. Correlação entre frequência de quiasmas intersticiais e frequência de quiasmas terminais

O teste de correlação aplicado célula a célula para todas as linhagens e testadores analisados neste experimento mostrou que a frequência de quiasmas terminais está negativamente correlacionada com a frequência de quiasmas intersticiais.

Alguns dados da literatura discutem o problema da correlação entre a frequência de quiasmas intersticiais e terminais. Trabalhos

desenvolvidos em trigo (ZARCHI *et alii*, 1972) e em *Cepaea* (PRICE, 1974, 1975; PRICE & McBRIDE, 1981) têm demonstrado através de testes de correlação que, na maioria das populações, a frequência de quiasmas terminais não esteve correlacionada com a frequência de quiasmas intersticiais. Resultados idênticos foram descritos em *Phyllodactylus marmoratus* (KING & HAYMAN, 1978). A partir destes dados os autores sugeriram que a frequência de quiasmas terminais teria um controle genético independente da frequência de quiasmas intersticiais. Controle genético independente para frequência total de quiasmas e frequência de quiasmas intersticiais também foi descrito em centeio (JONES, 1967; LEIN & LELLEY, 1987) e em *Lolium perenne* (KARP & JONES, 1983).

Em milho, entretanto, os resultados obtidos mostram que existe correlação entre frequência de quiasmas terminais e frequência de quiasmas intersticiais. Mais especificamente, à medida que aumenta a frequência de quiasmas terminais, reduz a frequência de quiasmas intersticiais. Esta correlação negativa entre estas duas características deve ser decorrente da terminalização de quiasmas já demonstrada ocorrer em milho (MAGUIRE, 1978, 1979). Quiasmas intersticiais quando terminalizados, tornam-se terminais e isto parece explicar esta correlação negativa, mostrando que a frequência de quiasmas terminais não é independente da frequência de quiasmas intersticiais. Em *Cepaea*, onde a frequência de quiasmas intersticiais não esteve correlacionada com a frequência de quiasmas terminais, por exemplo, têm sido obtidas evidências a favor da não terminalização de quiasmas (PRICE, 1974).

A frequência de quiasmas intersticiais foi relativamente baixa quando comparada com a frequência de quiasmas terminais (Figura 8). Isto também deve ser uma decorrência da terminalização dos quiasmas, pois tais quiasmas foram avaliados na fase de diacinese. Nesta fase, é possível que alguns quiasmas intersticiais tivessem já sofrido terminalização.

A correlação entre frequência total de quiasmas e frequência de quiasmas intersticiais foi avaliada em centeio. GIRALDEZ & LACADENA (1978) observaram que quando a frequência de quiasmas decresce, os quiasmas estão localizados numa posição mais distal. LEIN & LELLEY (1987), entretanto, observaram que o aumento na frequência média de quiasmas não foi proporcional ao aumento na frequência de quiasmas intercalares. A linhagem que apresentou a menor frequência média de quiasmas mostrou a maior frequência de quiasmas intersticiais, enquanto que uma linhagem com alta frequência média de quiasmas exibiu quase que exclusivamente quiasmas terminais. No caso em estudo, verificou-se que existe uma tendência da frequência de quiasmas intersticiais ser maior nas linhagens com alta frequência de quiasmas por microsporócito ($r = 0,3756$, $P < 0,05$). Contudo, pode-se observar que algumas linhagens com baixa frequência de quiasmas por microsporócito mostraram alta frequência de quiasmas intersticiais. Isto talvez seja um mecanismo para assegurar a manutenção da estrutura do bivalente, impedindo a formação de univalentes.

5.2. Frequência de quiasmas nos testadores

Considerando-se que os quatro testadores analisados, ou seja, dois sintéticos e dois híbridos simples, possuíam alto grau de

heterozigose, os resultados aqui obtidos concordam com os descritos na literatura para genótipos heterozigóticos e que já foram apresentados neste trabalho. Os dois híbridos simples, certamente por apresentarem maior grau de heterozigose, mostraram maior freqüência de quiasmas e menor variação na freqüência de quiasmas entre e dentro de plantas que os sintéticos.

Como não dispomos ainda dos resultados dos "top-crosses" destes testadores com as linhagens analisadas, não podemos fazer consideração alguma sobre a influência da freqüência de quiasmas do testador sobre a sua eficácia em discriminar a capacidade de combinação da linhagem.

5.3. Cromossomos univalentes

5.3.1. Freqüência de quiasmas e ocorrência de univalentes

A freqüência de plantas e células com cromossomos univalentes foi variável entre as linhagens (Tabela 16). Algumas linhagens foram totalmente destituídas de tais cromossomos, outras os apresentaram em baixa freqüência, enquanto outras os apresentaram em alta freqüência. Este comportamento diferencial entre linhagens de mesma origem pode ser explicado com base na segregação gênica para freqüência de quiasmas decorrente da endogamia. Considerando-se que a freqüência de quiasmas estaria sob controle poligênico, como descrito anteriormente, torna-se fácil entender que linhagens extraídas de uma mesma população, quando submetidas a alguns ciclos de autofecundação possam apresentar diferenças na freqüência de quiasmas. As linhagens que fixaram genes para alta freqüência de quiasmas não apresentariam cromossomos univalentes, enquanto que aquelas que fixaram

genes para baixa frequência de quiasmas apresentariam tais cromossomos. Este comportamento diferencial com relação à presença de univalentes em linhagens de mesma origem já foi descrito em milho (VILLAMIZAR, 1976; PAGLIARINI, 1980, 1983; PAGLIARINI *et alii*, 1986a).

Pelo descrito acima, deduz-se que existe uma correlação negativa entre frequência de quiasmas e frequência de univalentes. No presente estudo, esta correlação foi observada ($r = -0,7699$, $P < 0,001$) (Figura 10). Observa-se que, à medida que há uma redução na frequência de quiasmas, há um aumento na frequência de cromossomos univalentes. Esta correlação também foi observada por VILLAMIZAR (1976), PAGLIARINI (1980, 1983) e PAGLIARINI *et alii*, (1986a).

Quando se avaliou a possibilidade de associação entre frequência de quiasmas intersticiais e frequência de cromossomos univalentes, encontrou-se uma baixa correlação ($r = -0,2428$, ns) (Figura 11). Algumas linhagens com alta frequência de univalentes mostraram alta frequência de quiasmas intersticiais, enquanto outras linhagens mostraram baixa frequência de quiasmas intersticiais. Isto mostra que a frequência de univalentes está correlacionada apenas com a frequência de quiasmas por microsporócito.

5.3.2. Comportamento meiótico dos cromossomos univalentes

Os cromossomos univalentes mostram correlação negativa com fertilidade (MÜNTZING & AKDIK, 1948; MORAES-FERNANDES, 1982; MORAES-FERNANDES *et alii*, 1984; SMITH & MURPHY, 1986). Admite-se que esta correlação ocorre porque os cromossomos univalentes não passam por disjunção regular na meiose. Como consequência, são formados micrósporos com um número

não balanceado de cromossomos, resultando em aborto de pólen. Entretanto, o comportamento dos univalentes parece variar de espécie para espécie e dentro da mesma espécie, possivelmente devido a diferenças genéticas (para revisão, veja BAKER *et alii*, 1976 e KODURU & RAO, 1981). Partindo-se destes princípios e da observação de que a frequência de micronúcleos na telófase I foi bem inferior à esperada com base nas anormalidades observadas nas fases anteriores (Tabelas 17, 18, 19 e 20), julgou-se necessário avaliar detalhadamente o comportamento dos cromossomos univalentes, pelo menos nas linhagens onde tais cromossomos foram mais abundantes.

Conforme se observou na Figura 13, para as quatro linhagens analisadas, houve redução da frequência de anormalidades na telófase I. Isto mostra que grande parte dos cromossomos univalentes que apresentaram ascensão precoce ou retardatária foram incluídos nos núcleos telofásicos. O comportamento dos cromossomos univalentes em milho tem sido estudado por diversos autores. Nestes estudos foram avaliados univalentes oriundos de estoques trissômicos, monossômicos e de plantas homozigóticas para genes assinápticos e dessinápticos.

McCLINTOCK & HILL (1931) analisando um estoque trissômico para o cromossomo 10, verificaram que o univalente, quando presente, comportou-se de forma irregular e quase sempre não foi incluído no núcleo. Entretanto, EINSET (1943) analisando a transmissão de trissômicos com relação ao tamanho do cromossomo, verificou que o univalente podia ser incluído ou ficar fora do núcleo. Observou ainda, que nos estoques trissômicos envolvendo cromossomos grandes, a maioria dos univalentes foi transmitida aos micrôsporos. Contudo, os cromossomos pequenos e de tamanho médio

foram mais frequentemente encontrados formando micronúcleos na telófase I e não sendo incluídos nos micrôsporos. No presente trabalho, ao se avaliar o comportamento dos univalentes, não se levou em consideração o tamanho dos mesmos, uma vez que univalentes originados pela falta de formação de quiasmas em estoques diplóides podem ocorrer para qualquer um dos pares de cromossomos. MAGUIRE (1977) observou que univalentes de trissômicos muitas vezes permaneceram na região da placa até muito tarde e outras vezes separavam-se equacionalmente. Uma planta monossômica para um cromossomo pequeno foi avaliada por FISCHER & EINSET (1940). Em 50% dos casos, o univalente foi incluído no núcleo. Nos demais, formou micronúcleo. Contudo, WEBER (1980) ao analisar estoques monossômicos para 8 dos 10 cromossomos de milho, verificou que o univalente não foi incorporado em nenhuma das células. Por outro lado, univalentes de células dessinâpticas tendem a sofrer segregação cromatídica na anáfase I, enquanto que os univalentes de células assinâpticas tendem a permanecer na região da placa pelo menos até a anáfase I tardia ou início da telófase e algumas vezes indefinidamente, mostrando considerável descondensação (MAGUIRE, 1977).

Em termos comparativos com estes trabalhos, o comportamento dos univalentes aqui estudados deveria ser semelhante ao descrito por MAGUIRE (1977) para o mutante dessinâptico, pois neste tipo de mutante ocorre pareamento cromossômico perfeito, podendo ocorrer "crossing-over", mas o quiasma terminaliza precocemente. O fenômeno é semelhante ao observado neste trabalho, onde ocorre pareamento cromossômico, mas não há formação de quiasmas. Em ambos os casos, os univalentes são em número de dois para cada par de cromossomos envolvido e se formam na mesma época. Contudo, no presente trabalho, segregação cromatídica raramente foi observada. Os

univalentes mostraram ascensão precoce ou tardia, para os pólos, acompanhada ou não por não-disjunção. O fenômeno da não-disjunção foi mais frequente quando dois ou mais pares de cromossomos se encontravam na forma de univalentes.

Pelo exposto, conclui-se que o comportamento dos cromossomos univalentes em milho, na primeira divisão, é extremamente variável, podendo depender de uma série de fatores.

Na segunda divisão, observou-se completa ausência de irregularidades e as tétrades foram, aparentemente, normais (Figura 13). Isto nos leva a sugerir duas hipóteses: 1) os micronúcleos seriam reincorporados ao macronúcleo durante a segunda divisão; 2) os micronúcleos passariam por um processo de desintegração, degenerando-se. No primeiro caso, se a disjunção cromossômica na primeira divisão foi regular, os micrôsporos formados serão normais. No segundo caso, quer a disjunção cromossômica na primeira divisão tenha sido normal ou não, os micrôsporos formados serão aneuploides pela desintegração de cromossomos. Estas duas hipóteses não foram testadas neste trabalho, pois envolveria novos experimentos onde deveria ser verificada a fertilidade do pólen e o número de cromossomos em sementes originadas de pais portadores de alta frequência de cromossomos univalentes. Pretende-se, em experimentos futuros, averiguar qual dessas hipóteses é a correta. Convém adiantar que os resultados da literatura são contraditórios. FISCHER & EINSET (1940) ao analisar uma planta monossômica verificaram que 74% dos univalentes, aparentemente, foram reincorporados no fuso durante a segunda divisão. Quando o univalente não foi incorporado no fuso na meiose II, formou um fuso independente e se dividiu.

Isto levou à formação de micrôsporos com micronúcleos. Teste de fertilidade nesta planta mostrou que 54% dos grãos de pólen foram abortivos, presumivelmente por perda no complemento cromossômico. Por outro lado, EINSET (1943) através do estudo de transmissão de trissômicos e ausência de micronúcleos nas tétrades ou micrôcitos, concluiu que os micronúcleos observados na telófase I desintegram-se no citoplasma durante o intervalo da anáfase I até a formação do micrôsporo.

No presente trabalho, além da formação de micronúcleos na telófase I, que necessita ainda de estudos mais detalhados sobre seu comportamento na meiose II, como descrito acima, observou-se em todas as linhagens não-disjunção. Esta não-disjunção, em algumas plantas, apresentou valores elevados (Tabelas 17, 18, 19 e 20). Quando há não-disjunção, quer os cromossomos sejam incluídos no núcleo, quer formem micronúcleos, a consequência final será a mesma, isto é, ocorrerá formação de micrôsporos aneuplóides.

Pelo exposto, somando a frequência de micronúcleos na meiose I, com possibilidade de degeneração, com a frequência de não-disjunção, que seguramente contribuirá para a formação de micrôsporos aneuplóides, tem-se uma frequência de anormalidades relativamente alta que deverá contribuir sobremaneira para a esterilidade do pólen. No presente estudo, não se avaliou a fertilidade do pólen, pois as inflorescências foram colhidas em fase ideal para estudos meióticos.

Como descrito, em milho, as tétrades são sempre normais, independentemente dos níveis de anormalidades observadas na meiose I. Isto impede a utilização de uma técnica muito útil em outras plantas que é a

avaliação do "Índice meiótico". O índice meiótico foi definido por LOVE (1949) como "a percentagem de quartetos de esporos normais" e tem sido usado como um indicador da regularidade meiótica em trigo (LOVE, 1951; SAURA, 1957; DEL DUCA, 1976; MORAES-FERNANDES, 1982; ZANETTINI, 1982), *Andropogon* (DEWALD & JALAL, 1974), *Bromus* (LA FLEUR & JALAL, 1972; HILL & CARNAHAN, 1963) e alfafa (SMITH & MURPHY, 1986). Como a análise da meiose toda é um processo muito demorado, a avaliação do índice meiótico limita-se a analisar apenas a fase de tetrade. Como se observa, tal procedimento não é válido para milho.

5.3.3. Frequência de cromossomos univalentes e capacidade de combinação

Discutiu-se, anteriormente, que as linhagens com alta e baixa capacidade de combinação diferem entre si na frequência total de quiasmas, sendo que as linhagens com baixa capacidade de combinação mostram menor frequência de quiasmas. Mostrou-se, também, que a frequência de quiasmas está correlacionada negativamente com frequência de univalentes. Frente a estes resultados, testou-se a possibilidade dos univalentes estarem correlacionados com capacidade de combinação. Os resultados (Tabelas 21 e 22) foram significativos, mostrando que a capacidade de combinação parece ser afetada pela frequência de univalentes. Maior frequência de univalentes em linhagens de milho com baixa capacidade de combinação já foi descrita por PAGLIARINI (1983) e PAGLIARINI *et alii* (1986a).

Pode-se tentar explicar esta associação entre capacidade de combinação e frequência de univalentes através das irregularidades na

meiose que os univalentes geram. Trabalhos desenvolvidos em inúmeras espécies de plantas têm demonstrado que a fertilidade é afetada por irregularidades meióticas (POWERS, 1932; MEYERS & HILL, 1943; MÜNTZING & AKDIK, 1948; BREMER & BREMER-REINDERS, 1954; BAEZINGER & KNOWLES, 1969; LA FLEUR & JALAL, 1972; DEWALD & JALAL, 1974; DEL DUCA, 1976; FALCÃO *et alii*, 1981; MORAES-FERNANDES, 1982; MORAES-FERNANDES *et alii*, 1984 e SMITH & MURPHY, 1986). Em milho, PAGLIARINI *et alii* (1986a) verificaram que as linhagens menos produtivas, em teste de "top-cross"; apresentaram menor frequência de quiasmas e maior frequência de cromossomos univalentes. Por outro lado, não foi obtida correlação entre fertilidade e distúrbios citológicos em trabalhos com *Dactylis glomerata* (WEISS *et alii*, 1951), *Bromus* (HILL & CARNAHAN, 1963) e triticale (MERKER, 1971; SISODIA *et alii*, 1970; HSAM & LARTER, 1973). Isto indica que outros fatores, além da estabilidade citológica, devem afetar a fertilidade.

A capacidade de combinação só parece ter sido correlacionada com anormalidades meióticas, até o momento, em milho (PAGLIARINI, 1983 e PAGLIARINI *et alii*, 1986a). Até então, a capacidade de combinação só foi definida em termos de genética quantitativa, sendo considerada uma função direta da diferença de frequências alélicas. No entanto, o melhorista conhece muito bem os efeitos da depressão por endogamia. O decréscimo de produção em linhagens endogâmicas pode ser tão drástico que limita sua utilização nos programas de melhoramento de milho. Os efeitos da endogamia sempre foram interpretados com base na genética Mendeliana, onde há fixação de alelos e aumento de homozigose.

O efeito de irregularidades meióticas sobre a depressão por endogamia foi muito bem estudado em alfafa por SMITH & MURPHY (1986). Alfafa, assim como milho, mostra depressão por endogamia para muitos caracteres agrônômicos de importância. A depressão por endogamia afeta drasticamente a fertilidade em alfafa. De S_1 a S_3 , a fertilidade decresce, em média, de 20,2% em cada geração. Irregularidades na meiose, medidas pela percentagem de quartetos irregulares, isto é, quartetos com micronúcleos, micrôsporos supernumerários ou citocinese irregular, aumentaram significativamente com a endogamia. Os aumentos em irregularidades em quartetos estiveram associados com aumento em número de univalentes na metáfase I. Em todos os materiais estudados, a percentagem de quartetos irregulares esteve negativa e significativamente correlacionada com a fertilidade. No entanto, a magnitude das correlações observadas entre fertilidade e irregularidades meióticas sugere que muitos outros fatores podem afetar negativamente a fertilidade das plantas endogâmicas. Entretanto, estes dados indicam que pelo menos uma porção da depressão em fertilidade pode ser atribuída a irregularidades meióticas.

HALLAUER & MIRANDA FILHO (1981) colocam que grande parte das linhagens de milho produzidas são de péssima qualidade e não são utilizadas. Calcula-se que 0,01% pode ser uma boa estimativa para o número de linhagens utilizáveis na produção de híbridos. Colocar-se-á, aqui, uma indagação: Será que grande parte das linhagens que vão sendo eliminadas durante a obtenção de endogamia, não seriam também portadoras de diversos tipos de irregularidades meióticas? Esta indagação é fundamentada em resultados obtidos durante o desenvolvimento deste trabalho, resumidos a

seguir: - As linhagens com baixa capacidade de combinação mostraram menor frequência de quiasmas, maior frequência de cromossomos univalentes e maior índice de outros tipos de irregularidades meióticas como: fusão celular, pontes e fragmentos, quebra cromossômica e anormalidades de fuso.

É conveniente comentar aqui, como coloca MORAES - FERNANDES (1982), que a relação entre irregularidades meióticas e fertilidade é difícil de ser demonstrada. Esta relação pode ser mais facilmente evidenciada através da comparação das progênes do que diretamente nas plantas afetadas. A hipótese sugerida por MORAES-FERNANDES é que se a instabilidade for transmitida por apenas um dos gametas, o grão formado apresentaria heterozigose para a deficiência cromossômica, o que poderia não afetar a fertilidade. Nas progênes de plantas com irregularidades meióticas estas deficiências cromossômicas entrariam em homozigose numa certa proporção de zigotos, tornando evidente a esterilidade.

EINSET (1943) observou que em milho não se percebe facilmente nenhum desbalanço cromossômico causando letalidade a micrôsporos, óvulos ou zigotos, pois as espigas de plantas trissômicas são totalmente férteis. Contudo, as sementes trissômicas são mais leves.

Um outro fator a ser considerado na transmissão de gametas aneuplóides é o parental que o transmite. A transmissão de um cromossomo extra pelo parental masculino é muito menor que pelo feminino. No lado feminino verificou-se, ainda, que a frequência de transmissão depende do tamanho do cromossomo. Cromossomos pequenos são transmitidos em menor frequência (para revisão, veja EINSET, 1943 e KHUSH, 1973).

Neste trabalho, como as linhagens analisadas possuíam $2n$ cromossomos, a não-disjunção observada levaria à formação de micrôsporos $n+1$ e $n-1$ quando havia um só par de univalentes, que foi a condição mais freqüente. Outros níveis de aneuploidia seriam observados em micrôsporos quando dois ou mais pares de univalentes estivessem presentes. Assim, a freqüência de sementes aneuplóides seria o dobro daquela observada quando se analisa a transmissão de monossômicos e trissômicos. Considerando-se que: 1) gametas $n-1$ e $n+1$ são inviáveis ou apresentam viabilidade reduzida; 2) há competição entre gametas n , $n+1$ e $n-1$; 3) zigotos, embriões e endospermas $2n+1$ e $2n-1$ apresentam viabilidade reduzida e desenvolvimento anormal; 4) sementes $2n+1$ e $2n-1$ apresentam germinação reduzida ou retardada; 5) plântulas $2n+1$ e $2n-1$ apresentam vigor reduzido (para revisão, veja KHUSH, 1973); acredita-se que a formação de gametas aneuplóides nas linhagens com alta freqüência de univalentes, traria problemas para a fertilidade e desempenho das mesmas.

Embora estudos detalhados da transmissão de gametas aneuplóides não tenham sido realizados nesta etapa do trabalho, observou-se que autofecundações realizadas nas linhagens S_7 com alta freqüência de univalentes aqui analisadas, apresentaram os seguintes problemas: baixa produção, ausência de germinação em algumas sementes, sementes pequenas e sementes vazias. Sugere-se que estes problemas possam ser causados por desbalanços cromossômicos originados pela presença de cromossomos univalentes.

Numa próxima etapa, pretendem-se realizar cruzamentos entre linhagens portadoras de univalentes a fim de se fazer um estudo minucioso sobre o comportamento destes cromossomos.

5.4. Anormalidades meióticas

5.4.1. Quebras cromossômicas

5.4.1.1. Fragmentos na diacinese

Fragmentos originados por rearranjos cromossômicos são comuns durante a meiose em plantas. Contudo, fragmentos com origem semelhante à observada em uma planta da linhagem LD-1823, ou seja, originados especificamente durante a diacinese em um ponto fixo de um determinado cromossomo parecem não ser comuns.

REES & THOMPSON (1955) encontraram em uma linhagem endogâmica de centeio algumas quebras cromossômicas, cujos fragmentos podiam ser observados a partir da metáfase I. Tais quebras envolviam apenas as duas cromátides irmãs de um cromossomo do par de homólogos, tornando o bivalente assimétrico. Com base nos fatos observados, os autores sugeriram que as quebras ocorreriam durante o paquíteno e seriam ao acaso, de modo que qualquer região do cromossomo poderia ser atingida. Os fragmentos observados variavam em tamanho. A maioria das quebras somente podia ser detectada na anáfase quando os fragmentos eram liberados e as pontes resultantes da fusão de cromátides irmãs podiam ser vistas. As análises realizadas em gerações segregantes destas plantas mostraram que estas quebras deviam ser condicionadas por, pelo menos, dois genes.

Esta forma de quebra observada em centeio parece não ter na da em comum com a observada em milho, onde os dois cromossomos do par de homólogos eram quebrados em posições homólogas e a região da quebra somente se tornava visível durante a diacinese.

Em milho, quebras cromossômicas visualizadas no paquíteno foram detalhadamente estudadas por McCLINTOCK (1951) quando investigava a origem dos locos mutáveis. A pesquisadora descobriu que uma quebra em um determinado loco (Ds) do cromossomo 9 estava envolvida no processo de mutabilidade. Verificou que este ponto de quebra correspondia a um local de inserção de transposon. A quebra podia envolver apenas um cromossomo do par de homólogos e ocorrer em uma mitose pré-meiótica ou durante a prófase da meiose. No primeiro caso, o fragmento acêntrico, com dimensão do loco Ds até o final do braço curto do cromossomo era perdido no núcleo e no segundo, permanecia pareado com seu homólogo, que não apresentava o loco Ds. Homozigose para o loco Ds também foi observada. Neste caso, ambos os cromossomos eram quebrados. Tivesse a quebra ocorrido em mitose pré-meiótica ou durante a prófase da meiose, envolvendo um ou ambos os cromossomos do par de homólogos, sempre era facilmente visualizada no paquíteno.

No caso verificado no presente trabalho, os paquítenos sempre se mostraram normais. A constrição que evidenciava o local de quebra era visível somente na diacinese, quando a separação do fragmento se concretizava completamente. Portanto, o fenômeno aqui observado parece não corresponder a locais de inserção de transposons semelhantes aos descritos por McCLINTOCK (1951). Contudo, as observações não são conclusivas.

As constrições observadas em milho assemelham-se muito às constrições dos sítios frágeis observados no genoma humano. Sítios frágeis são locais específicos do cromossomo, herdados de maneira Mendeliana codominante e expressos em baixa frequência na população. São vistos como

"gaps" não corados ou quebras em uma ou em ambas as cromátides de um cromossomo mitótico metafásico. São distinguidos de lesões cromossômicas causais por sua especificidade de local e relativamente alta frequência quando células são expostas a agentes indutores apropriados ou condições de cultura (ROBINSON & ELDER, 1987). O mecanismo molecular pelo qual tais sítios exibem fragilidade ainda é desconhecido, embora várias análises genéticas tenham demonstrado que isto é devido a alguma, embora não identificada, seqüência ou seqüências de DNA residentes no sítio cromossômico observado (WARREN *et alii*, 1987).

Inúmeros sítios frágeis têm sido detectados e mapeados em humanos. ROBINSON & ELDER (1987) descrevem que 51 sítios frágeis têm sido observados como comuns ao homem, chipanzê e gorila, indicando que os sítios frágeis podem ser conservados durante a evolução em espécies relacionadas. Em outros mamíferos, ratos e hamsters, também têm sido encontrados sítios frágeis. Em plantas não se encontra ainda descrição alguma da ocorrência deste fenômeno.

Como colocado acima, os sítios frágeis em mamíferos aparecem em uma ou em ambas as cromátides de um cromossomo mitótico metafásico. Não se encontra descrição dos mesmos durante a meiose, isto talvez por dificuldades e escassez de estudos nesta forma de divisão celular em mamíferos. Quanto ao fato de ocorrerem mais freqüentemente em um único cromossomo, ROBINSON & ELDER (1987) colocam que sítios frágeis comuns poderiam apresentar expressão homozigótica sob condições apropriadas. No caso do milho, aqui observado, se o fenômeno se tratar de um sítio frágil, estaria em condição homozigótica e sendo expresso durante a diacinese.

WARREN *et alii* (1987) observaram que um sítio frágil pode influenciar uma quebra cromossômica específica e levar a rearranjos cromossômicos não ao acaso. Segundo os autores, este achado é de relevância para a relação postulada entre certos sítios frágeis autossômicos e pontos de quebras de translocações cromossômicas não ao acaso observadas em leucemias e linfomas.

Em milho, a completa inexistência de fragmentos nas fases posteriores à diacinese e de pontes anafásicas leva a supor que possam ter havido rearranjos cromossômicos ou que tais fragmentos tenham se degenerado e as extremidades quebradas dos cromossomos sofrido cicatrização.

Esta quebra pareceu não afetar a produção de micrôsporos, pois as tétrades não apresentaram micronúcleos. Contudo, não se pode afirmar que o fenótipo da planta não seria afetado.

5.4.1.2. Pontes e fragmentos na anáfase

Uma planta da linhagem LD-1741 com baixa capacidade de combinação apresentou pontes e fragmentos na anáfase. A ocorrência de pontes e fragmentos em plantas alógamas autofecundadas parece ser um fenômeno comum, pois já foi descrita em centeio (LAMM, 1936; MÜNTZING & AKDIK, 1948; REES, 1955; REES & THOMPSON, 1955), rabanete (DAYAL, 1979) e milho (CLARK, 1942; Blanco, 1949; citado por DAYAL, 1979). Em quase todos os casos acima citados, as pontes e os fragmentos foram decorrentes da presença de inversões heterozigotas. No caso em questão, embora não se tenha conseguido detectar segmento invertido no paquíteno, os resultados também sugerem ocorrência de inversão heterozigota. Os resultados encontrados, apresentados

na Tabela 26, mostram muita semelhança com os obtidos por McClintock (1938), citada por BURNHAM (1962), quando a autora analisou as consequências de uma inversão paracêntrica heterozigota no braço longo do cromossomo 4 de milho.

Obviamente estas anormalidades podem levar a esterilidade do pólen porque os gametas são portadores de deficiências cromossômicas. McClintock (1938) citada por BURNHAM (1962), previu, no caso por ela estudado, uma percentagem de aborto de pólen de 28,2. No presente caso, utilizando-se o mesmo sistema para cálculo de aborto de pólen, chegou-se a um índice de 42,84%. Taxas de aborto de pólen variando de 16,0% a 42,8% foram detectadas em quatro plantas com inversão analisadas por CLARK (1942). A taxa de aborto de pólen prevista (42,84%) não pôde ser confirmada em testes de fertilidade de pólen pelo fato da inflorescência ter sido colhida em fase ideal para estudos meióticos.

Descreve-se (BURNHAM, 1962) que as inversões reduzem sensivelmente a taxa de recombinação. Embora a planta que apresentou pontes e fragmentos, sugerindo ocorrência de inversão, tenha apresentado baixa frequência média de quiasmas (16,86) e alta frequência de células com cromossomos univalentes (35%), as outras plantas normais da mesma linhagem também apresentaram frequência de quiasmas e univalentes mais ou menos nas mesmas proporções (Tabela 23). Dessa forma, não foi possível comprovar o efeito da inversão sobre a frequência de quiasmas.

5.4.2. Fuso divergente

Inúmeros trabalhos são descritos na literatura relacionados com mutações que afetam o processo meiótico em milho. Tais trabalhos abordam, principalmente, os fenômenos de assinapse e dessinapse. Trabalhos relacionados com mutações que afetam o fuso são raros.

Anormalidades no fuso parecem ter sido primeiramente descritas por Beadle (1930, 1933), citados por MILLER (1963). O autor observou que o fuso na metáfase I foi sempre maior nas plantas com gene as que em plantas normais. A elongação do fuso foi presumida estar relacionada com a falta de pareamento na metáfase I. Fusos alongados devido à presença do gene as também foram observados por MILLER (1963). Tais fusos geralmente não se situavam no centro da célula, mas faziam uma curva na periferia. O autor observou, contudo, que a falta de pareamento, por si só, não era a causa da anormalidade no fuso.

Outra forma de anormalidade de fuso, conhecida como "fuso divergente" (dv), foi descrita pela primeira vez por CLARK (1940). Este mutante foi obtido através do tratamento de grãos de pólen por ultravioleta e exibiu um fuso altamente aberrante na microsporogênese. Ao invés das fibras convergirem para os pólos, elas foram paralelas ou divergentes e o fuso se apresentou muito alongado. A orientação dos bivalentes e a disjunção foram normais, mas dependendo do grau de divergência, os cromossomos podiam não convergir para os pólos. Cada cromossomo ou grupo de cromossomos formou um núcleo. O número de díades com um núcleo foi pequeno. Houve predominância de células com dois ou mais núcleos. Cada núcleo, independente de seu número de cromossomos, entrou em prófase II e produziu seu

próprio fuso na metáfase II. Os vários fusos de uma díade podiam se fundir se paralelos, embora fossem, freqüentemente, não paralelos. Na segunda divisão o fuso podia também ser divergente. Conseqüentemente, eles podiam formar mais que quatro esporos por tétrede e a maioria dos micrôsporos (42 - 95%) foram multinucleados. Este mutante foi sexo específico, pois atingiu somente a microsporogênese, deixando a inflorescência masculina semi-estéril. A esterilidade do pólen neste mutante foi, aparentemente, devida a aneuploidias que parecem ter resultado somente da falta de orientação apropriada no fuso da meiose II. A quantidade de aborto de pólen variou dentro de diferentes anteras de uma mesma planta e variou também, consideravelmente, entre plantas. A percentagem de grãos de pólen abortivos, incluindo os pequenos e os vazios, variou de 13 a 90%. CLARK sugeriu que esta variabilidade na fertilidade do pólen entre diferentes plantas e entre anteras de uma mesma planta fosse devido ao efeito ambiental na expressão do gene dv na época em que os microsporócitos estivessem sofrendo meiose.

O comportamento de mutantes "fuso divergente" parece ser um pouco diferente em cada caso estudado. GOLUBOVSKAYA & MASHNENKOV (1981) observaram que em plantas com esta mutação, na metáfase I, os cromossomos se reuniam no centro da célula e ficavam com os centrômeros mal orientados. Por esta razão, uma placa celular mal orientada era formada e o resultado foi disjunção desordenada de homólogos na anáfase I. Cada cromossomo moveu-se em direção ao seu próprio pólo, independentemente do movimento dos outros cromossomos. Fenotipicamente, esterilidade foi observada tanto no lado masculino quanto no feminino.

As observações feitas no presente trabalho concordam mais com as feitas por CLARK (1940), pois as fibras do fuso foram paralelas, o fuso muito alongado, a orientação dos bivalentes e a disjunção normais, houve formação de vários núcleos na díade e a expressividade do gene não foi a mesma em todos os microsporócitos. No presente caso, o número de díades normais foi bem maior que o de díades com vários núcleos, contrariamente ao observado por CLARK. Isto sugere que o ambiente tenha afetado em menor grau as plantas aqui analisadas. Embora muitos micronúcleos tenham sido observados na telófase I, não se observaram polifusos na segunda divisão. Em alguns casos, observou-se que o fuso era divergente também na segunda divisão. Isto deve ter levado ao aparecimento de micronúcleos, como observado em algumas tétrades. Tanto CLARK (1940) como GOLUBOVSKAYA & MASHNENKOV (1981) observaram esterilidade de pólen nos mutantes dv. No presente estudo, a fertilidade do pólen não foi testada, uma vez que as inflorescências haviam sido coletadas para análise meiótica. Entretanto, considerando-se a presença de micrócitos e de micrósporos com micronúcleos, é possível que alguma esterilidade existiria entre os grãos de pólen.

5.4.3. Fusão celular

Fusão celular, com ou sem troca de cromatina entre microsporócitos, é um fenômeno que já foi descrito em inúmeras espécies de plantas desde o início deste século (para revisão, veja PRICE, 1956; KAMRA, 1960a, b), e continua sendo observado até hoje em outras espécies. Este fenômeno ocorre, geralmente, durante as fases iniciais da meiose.

A fusão celular, levando à formação de sincícios, em muitos casos tem sido descrita ser resultante da fusão de microsporócitos em fases iniciais da meiose enquanto está sendo feita a deposição de calose na parede dos microsporócitos. Todavia, em outros casos, tem sido descrita como devida à destruição da parede celular. Neste caso, segundo LEVAN (1941) os sincícios apresentariam contornos irregulares. Neste estudo, sincícios com contornos regulares e irregulares mostrando, inclusive, conexões através de pontes citoplasmáticas, foram observados (Figura 19). Como os sincícios foram observados desde o zigóteno, acredita-se que as fusões tenham ocorrido em fases iniciais da meiose.

Na maioria dos casos em que a fusão celular tem sido descrita os núcleos desenvolveram-se separada e sincronicamente através da meiose, de modo que muitos fusos foram formados dentro do sincício (PRICE, 1956). Isto foi observado também no presente estudo, pois independentemente do número de microsporócitos fundidos, havia individualidade nuclear dentro do sincício em qualquer que fosse a fase da meiose I (Figura 18). Por outro lado, em *Phleum pratense* (LEVAN, 1941) e em *Cyamopsis tetragonoloba* (SARBHOY, 1980), todos os cromossomos do sincício, a partir da metáfase I, organizaram-se em um único fuso normal e bipolar, enquanto em *Gloriosa* (NARAIN, 1980) os cromossomos de células multinucleadas orientaram-se em dois ou mais pólos.

O comportamento dos sincícios durante a meiose II não tem sido descrito em nenhuma espécie. LEVAN (1941) observou que sincícios formados pela fusão de muitas células não chegavam à segunda divisão, mostrando que muitos deles se atrofiam no final da meiose I. No presente estudo,

os sincícios também nunca foram observados durante a meiose II. Contudo, não se pode afirmar que tenham sofrido degeneração, pois micrôsporos com irregularidades em tamanho e número de núcleos e nucléolos (Figura 19) revelam que pelo menos alguns sincícios devem ter passado pela segunda divisão e, esta, não deve ter sido tão regular quanto foi a meiose I.

Células binucleadas em milho já foram descritas por Randolph & McClintock (1926) e Beadle (1930), citados por KAMRA (1960a), BEADLE (1932), MORGAN (1956) e PEETERS *et alii* (1985). No caso em questão, não apenas fusões envolvendo duas células, mas fusões envolvendo até 11 microporócitos foram observadas. Portanto, este caso de fusão parece ser um pouco diferente dos até então descritos em milho.

As causas da fusão celular em milho têm sido discutidas. BEADLE (1932) considerou que a falta de formação de parede seria geneticamente controlada. Todavia, PEETERS *et alii* (1985) ao analisarem as causas da fusão celular em milho pipoca himalaio verificaram que pouca ou nenhuma calose era depositada na formação da parede celular no início da prófase I. Consideraram que as fusões poderiam ser devidas a mudanças nas condições ambientais, pois as plantas F₁ e F₂ foram muito mais normais que as plantas parentais, onde a influência ambiental pode ser maior. No presente caso, as fusões observadas sugerem origem genética, provocada pela homozigose causada pela endogamia, antes que por fatores ambientais, pois todas as dez plantas da linhagem LD-1741 cresceram sob as mesmas condições ambientais e somente uma delas apresentou fusão celular.

Passagem de cromossomos de uma célula para outra através de conexões citoplasmáticas tem sido descrita em inúmeras espécies de plantas.

Este fenômeno, caracterizado como citomixia, ocorre mais frequentemente durante as fases iniciais da microsporogênese, principalmente entre o diplôteno e a diacinese. No caso em estudo, a ocorrência de células com variações no número de cromossomos, desde a fase de zigóteno e não mostrando conexão alguma entre células vizinhas, sugere que a troca de cromatina tenha ocorrido nas mitoses pré-meióticas ou entre as células do tapetum e os microsporócitos. Este último caso já foi descrito em *Lilium* (COOPER, 1952), com o qual TAKATS (1959) não concorda, mostrando que os glóbulos de cromatina associados aos microsporócitos saem do próprio núcleo do microsporócito. A total falta de conexão entre as células que apresentam transferência de cromossomos já no zigóteno, a presença de células anucleadas e a presença de células com mais que dois nucléolos, são fatos que mostram que mais que duas células estiveram envolvidas na troca de cromatina em fases pré-meióticas. Todavia, a metodologia aqui utilizada não permite analisar as células do tecido esporígeno. Para isto, seriam necessários cortes histológicos.

Em algumas plantas, a passagem de cromossomos através de conexões citoplasmáticas tem sido observada durante toda a meiose, porém, predominando na fase de prófase I (SARVELLA, 1958; BAUCHAN *et alii*, 1987; BASAVIAH & MURTHY, 1987). No caso em questão, as células que mostravam variações no número de cromossomos só foram observadas até a fase de diacinese. Possivelmente o grande desbalanço cromossômico existente na maioria delas tenha levado à desintegração celular. Obviamente, células anucleadas, células apresentando somente nucléolo, células com apenas alguns fragmentos de cromossomos não podem progredir na meiose. Produção de tetrades anormais e esterilidade de pólen têm sido observadas em muitos casos

onde houve citomixia (SARVELLA, 1958; SARBHOY, 1980; BAUCHAN *et alii*, 1987; SOODAN & WAFI, 1987; BASAVIAH & MURTHY, 1987 e SAPRE & DESHPANDE, 1987). No presente caso, micrôsporos anormais também foram observados. Contudo, como esta mesma planta mostrou também fusão celular sem fusão nuclear e os sincícios foram observados até a telófase I, pode-se supor que os micrôsporos anormais possam ser oriundos destes dois fenômenos.

É interessante observar que o número de plantas afetadas pela citomixia, às vezes apenas uma em uma população, e o número de células dentro das plantas afetadas, é extremamente baixo em todos os casos analisados (LEVAN, 1941; SARBHOY, 1980; BAUCHAN *et alii*, 1987; BASAVIAH & MURTHY, 1987; SOODAN & WAFI, 1987). No presente estudo, somente uma planta da linhagem LD-1741 apresentou células com variações no número de cromossomos e em mais ou menos 2% dos microsporócitos.

Citomixia em milho foi descrita por McClintock (1929), citada por KAMRA (1960b). PEETERS *et alii* (1985) analisando um tipo de milho pipoca himalaio observaram células poliplóides resultantes de fusão, bem como células que não carregavam os dois complementos cromossômicos esperados pela fusão. Nestas células a cromatina de um complemento parecia estar se degradando, sem nenhum efeito aparente para o outro complemento. Observou-se que este processo de degradação da cromatina podia ser parcial, levando à formação de aneuplóides, cujos cromossomos em gerações subsequentes transformavam-se em diferentes tipos de cromossomos supernumerários.

Os fenômenos da supercondensação de cromossomos e cromossomos com aspecto de degeneração observados nas células aqui analisadas

parecem ser comuns, pois foram observados também em *Gloriosa* (NARAIN, 1980) e em milho (PEETERS *et alii*, 1985). O fenômeno da supercondensação cromossômica ou condensação cromossômica prematura (PCC) ocorre quando uma célula em interfase se funde com uma célula em divisão (JOHNSON & RAO, 1970). Com relação a degradação da cromatina em um dos complementos, PEETERS *et alii* (1985) propõem algumas hipóteses, sendo que uma delas seria a fusão de células não na mesma fase de divisão.

Embora a fusão celular e a citomixia sejam fenômenos amplamente descritos na literatura, abrangendo inúmeras espécies e famílias de plantas, suas conseqüências são muito discutidas. Dependendo do grau de citomixia, podem se originar células desde aneuplóides até poliplóides (SAPRE & DESHPANDE, 1987). PEETERS *et alii* (1985), após minuciosos estudos em milho, chegaram à conclusão que a fusão celular pode ter uma força significativa na gênese de novos cariótipos.

5.4.4. Assincronia na meiose

Assincronia na meiose, ou seja, ocorrência de mais de uma fase da divisão dentro de uma mesma antera, foi descrita em milho por VILLAMIZAR (1976), VILLAMIZAR & AGUIAR (1976), PAGLIARINI & AGUIAR-PERECIN (1979), PAGLIARINI (1980) e AGUIAR-PERECIN *et alii* (1984).

VILLAMIZAR (1976) e VILLAMIZAR & AGUIAR (1976) verificaram que algumas linhagens que mostravam assincronia na meiose, mostravam também menor estabilidade na freqüência de quiasmas. Admitiram que a instabilidade na formação de quiasmas deveria ser uma conseqüência da assincronia, pois a contagem do número de quiasmas poderia ter sido feita em

diacineses cujos bivalentes estariam apresentando diferentes graus de terminalização. Por outro lado, PAGLIARINI & AGUIAR-PERECIN (1979) e PAGLIARINI (1980) observaram que uma linhagem com meiose assincrônica se mostrou estável na formação de quiasmas, enquanto outras linhagens com meiose sincrônica mostraram instabilidade neste caráter. Isto mostra que a instabilidade na formação de quiasmas pode não ser decorrente apenas da assincronia na meiose, mas outros fatores devem estar envolvidos.

A Tabela 24 mostra a percentagem de plantas que mostraram assincronia nas linhagens e testadores analisados. Verifica-se que houve um número maior de plantas com meiose assincrônica entre as linhagens de baixa capacidade de combinação. Numa comparação da Tabela 24 com a Figura 1, onde se mostra o coeficiente de variação dentro de plantas, dando uma idéia da estabilidade da frequência de quiasmas entre células, pode-se verificar que linhagens que apresentaram algumas plantas com meiose assincrônica tiveram estabilidade semelhante a linhagens que apresentaram meiose sincrônica. Inclusive, as linhagens que mostraram maior instabilidade na frequência de quiasmas apresentaram meiose sincrônica.

Apesar de não ter havido correlação entre assincronia na meiose e estabilidade para frequência de quiasmas, é interessante observar que as linhagens com baixa capacidade de combinação foram as que demonstraram maior frequência de plantas com meiose assincrônica. Sugere-se que uma planta com meiose assincrônica poderia apresentar um amadurecimento de gametas não sincrônico. Isto poderia afetar o processo de fecundação, a fertilidade e, conseqüentemente, a capacidade de combinação da linhagem.

5.5. Cromossomos B

As linhagens LF-1350 e LD-1715 apresentaram cromossomos B. A frequência destes cromossomos nestas linhagens é apresentada na Tabela 25 juntamente com a frequência total de quiasmas e a frequência de quiasmas intersticiais. A análise desta Tabela mostra que os cromossomos B parecem não ter desempenhado nenhum papel na frequência de quiasmas, pois plantas sem cromossomos B apresentaram frequência de quiasmas semelhante à das plantas com estes cromossomos. A literatura mostra que em milho os resultados obtidos mostrando a influência dos cromossomos B sobre a frequência de quiasmas ou recombinação parecem ser contraditórios, variando de: 1) nenhum efeito sobre a recombinação (BIANCHI *et alii*, 1962); 2) redução na taxa de recombinação (RHOADES, 1968); 3) acréscimo na taxa de recombinação ou na frequência de quiasmas (AYONOADU & REES, 1968; RHOADES, 1968; HANSON, 1969; MELNYCZENKO, 1970; CHANG & KIKUDOME, 1971, 1974; WARD, 1972, 1973, 1976; NEL, 1969, 1973). Obviamente, o número de trabalhos onde se encontrou influência positiva dos cromossomos B sobre a frequência de quiasmas é bem maior. Entretanto, é preferível admitir, como tem sido sugerido em outras espécies (JONES & REES, 1967; HENRIQUES-GIL *et alii*, 1982a,b; CANO *et alii*, 1986), que a influência dos cromossomos B sobre a frequência de quiasmas em cromossomos A depende do "background" genético do indivíduo que o carrega.

Uma outra consideração que tem sido feita a respeito dos cromossomos B é a sua capacidade de redistribuir os quiasmas de posições distais para posições mais próximas (WARD, 1976). No presente caso, (Tabela 25), a frequência de quiasmas intersticiais parece não ter sofrido

influência da presença dos cromossomos B.

Faz-se notar, aqui, que a presença de cromossomos B não afetou a capacidade de combinação, pois as duas linhagens que apresentaram estes cromossomos foram de alta capacidade de combinação e, inclusive, a linhagem LD-1715 foi muito produtiva, apresentando sementes muito grandes quando comparada com as demais linhagens.

6. CONCLUSÕES

A análise da frequência de quiasmas das 40 linhagens S₇, selecionadas a partir de germoplasma Flint e Dentado para alta e baixa capacidade de combinação, revelou que:

1) As linhagens com baixa capacidade de combinação mostraram tendência em apresentar menor frequência de quiasmas por microsporócito.

2) A frequência de quiasmas intersticiais, embora tenha mostrado diferenças significativas entre os grupos de alta e baixa capacidade de combinação, apresentou resultados contraditórios entre as linhagens Dentado e Flint. Nas linhagens Flint, a frequência de quiasmas intersticiais foi maior naquelas com alta capacidade de combinação, enquanto que nas linhagens Dentado foi menor.

3) A frequência de quiasmas terminais não diferiu entre as linhagens de alta e baixa capacidade de combinação, tanto para o grupo Flint quanto para o Dentado.

4) A frequência de quiasmas intersticiais esteve negativamente correlacionada com a frequência de quiasmas terminais, sendo, provavelmente, um reflexo da ação da terminalização de quiasmas.

5) A frequência de cromossomos univalentes foi maior nas linhagens com baixa capacidade de combinação e esteve negativamente correlacionada com a frequência de quiasmas por microsporócito.

6) Os cromossomos univalentes apresentaram movimentação irregular no fuso, acompanhada ou não por não-disjunção. Os micronúcleos formados na primeira divisão nunca foram observados na segunda divisão, o que sugere que os mesmos teriam sofrido desintegração ou reincorporação ao fuso. Os quartetos de micrôsporos foram sempre normais.

7) Anormalidades meióticas, como quebras cromossômicas, pontes e fragmentos, fusão celular e anormalidades no fuso só foram observadas entre linhagens com baixa capacidade de combinação.

Os resultados aqui apresentados, mostrando que a frequência de quiasmas é menor e a frequência de vários tipos de anormalidades meióticas é maior nas linhagens com baixa capacidade de combinação, sugerem que a capacidade de combinação seja influenciada pelos acontecimentos que ocorrem durante o processo meiótico. A capacidade de combinação, até o momento, parece ter sido definida somente em termos de genética quantitativa, sendo considerada como uma função direta da diferença de frequências alélicas. Entretanto, admite-se que qualquer irregularidade que ocorre durante a esporogênese, reduz o número de gametas viáveis resultando em

decrêscimo de fertilidade. Assim, os presentes resultados sugerem que além de uma maior frequência de alelos favoráveis para a produção de grãos, a capacidade de combinação de uma linhagem parece ser influenciada também pela regularidade de seu processo meiótico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR-PERECIN, M.L.R. de; PAGLIARINI, M.S.; VILLAMIZAR, N.R. Aspectos de controle genotípico da frequência de quismas em milho. In: AGUIAR-PERECIN, M.L.R. de; MARTINS, P.S.; BANDEL, G., ed. *Tópicos de Citogenética e Evolução de Plantas*. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética, 1984. p.111-23. (Colóquio sobre Citogenética e Evolução de Plantas, 1, Piracicaba, 1984).

AGUILAR-MORÁN, J.F. Avaliação do potencial genético de linhagens e respectivos testadores obtidos de duas populações de milho (*Zea mays* L.). Piracicaba, 1984. 118p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).

AYONOADU, V. & REES, H. The influence of B-chromosomes on chiasma frequencies in Black Mexican sweet corn. *Genetica*, S.Gravenhage, 39: 75-81, 1968.

- BAEZINGER, H. & KNOWLES, R.P. Agronomic significance of supernumerary chromosomes in controlled-cross progenies and experimental synthetics of crested wheatgrass. *Can.J.Plant Sci.*, Ottawa, 49:173-9, 1969.
- BAKER, B.S.; CARPENTER, A.T.C.; ESPOSITO, M.S.; ESPOSITO, R.E.; SANDLER, L. The genetic control of meiosis. *Anni.Rev.Genet.*, Palo Alto, 10: 53-134, 1976.
- BASAVAIHAH & MURTHY, T.C.S. Cytomixis in pollen mother cells of *Urochloa panicoides* P. Beauv. (Poaceae). *Cytologia*, Tokyo, 52:69-74, 1987.
- BAUCHAN, G.R.; LINKOUS, L.W.; TAI, W. Cytomixis in *Agropyron cristatum*. *Genome*, Ottawa, 29:765-9, 1987.
- BEADLE, G.W. A gene in *Zea mays* for failure of cytokinesis during meiosis. *Cytologia*, Tokyo, 3:142-55, 1932.
- BENNET, C.A. & FRANKLIN, N.L. *Statistical analysis in chemistry and the chemical industry*. 3.ed. New York, John Wiley & Sons, 1963. 724p.
- BIANCHI, A.; BUIATTI, M.; VAN DE WALLE, C. Recombination frequency in presence of B chromosomes in maize. *Maize Genet. Coop. News Letter*, Urbana, 47:493-4, 1962.
- BREMER, G. & BREMER-REINDERS, D.E. Breeding of tetraploid rye the Netherlands. *Euphytica*, Wageningen, 3:49-63, 1954.
- BURNHAM, C.R. *Discussion in Cytogenetics*. Minneapolis, Burgess Publication, 1962. 375p.

- CANO, M.I.; HENRIQUES-GIL, N.; ARANA, P.; SANTOS, J.L. The relationship between chiasma frequency and bivalent length: effects of genotype and supernumerary chromosomes. *Heredity*, London, 56:305-10, 1986.
- CERMEÑO, M.C.; ORELLANA, J.; LACADENA, J.R. Evidence of nonchiasmate bonds at metaphase I in inbred rye. *Can. J. Genet. Cytol.*, Ottawa, 26:409-14, 1984.
- CHANG, C.C. & KIKUDOME, G.Y. Is the effect of the B-chromosomes on recombination primarily an additive one? *Maize Genet. Coop. News Letter*, Urbana, 45:134-6, 1971.
- CHANG, C.C. & KIKUDOME, G.Y. The interaction of knobs and B-chromosomes of maize in determining the level of recombination. *Genetics*, Princeton, 77:45-54, 1974.
- CHINICCI, J.P. Modification of recombination frequency in *Drosophila*; I. Selection for increased and decreased crossing-over. *Genetics*, Princeton, 69:71-83, 1971a.
- CHINICCI, J.P. Modification of recombination frequency in *Drosophila*; II. The polygenic control of crossing-over. *Genetics*, Princeton, 69:85-96, 1971b.
- CHUGHTAI, S.R. & STEFFENSEN, D.M. Heterochromatic knob composition of commercial inbred lines of maize. *Maydica*, Bergamo, 32:171-87, 1987.

- CLARK, F.J. Cytogenetic studies of divergent meiotic spindle formation in *Zea mays*. *Am.J.Bot.*, New York, 27:547-59, 1940.
- CLARK, F.J. Cytological and genetic studies of sterility in inbred and hybrid maize. *Conn.Agric.Exp.Station*, New Haven, 465:704-26, 1942.
- COBROR, O.; OLMO, E.; ODIERNA, G.; ANGELINI, F.; CIARCIA, G. Cyclic variation of chiasma frequency and distribution in *Podarcis sicula* (Reptilia: Lacertidae). *Genetica*, S-Gravenhage, 71:31-7, 1986.
- COOPER, D.C. The transfer of desoxyribose nucleic acid from the tapetum to the microsporocytes at the onset of meiosis. *Amer.Natur.*, Lancaster, 86:219-29, 1952.
- CROWLEY, J.G. Chiasma frequency and longevity in *Lolium multiflorum*. *Heredity*, London, 24:181-8, 1969.
- DARLINGTON, C.D. Chromosome behaviour and structural hybridity in the *Tradescantiae*. *J.Genet.*, London, 21:207-86, 1929.
- DARLINGTON, C.D. Natural populations and the breakdown of classical genetics. *Proc.Roy.Soc.*, London, 145:350-64, 1956.
- DAS, P.K. & JAIN, H.K. Studies on adaptation in wheat; III. Chiasma formation and varietal adaptability. *Ind.J.Genet. & Plant Breed.*, New Delhi, 33:181-4, 1972.

- DAYAL, N. Cytogenetical studies in the inbred lines of radish (*Raphanus sativus* L. var. *radicola* Pers.) and their hybrids; I. Chiasma frequency, *Cytologia*, Tokyo, 42:29-35, 1977a.
- DAYAL, N. Cytogenetical studies in the inbred lines of radish (*Raphanus sativus* L. var. *radicola* Pers.) and their hybrids; II. Genetic regulation of chiasma frequency. *Cytologia*, Tokyo. 42:273-8, 1977b.
- DAYAL, N. Cytogenetical studies in the inbred lines of radish (*Raphanus sativus* L. var. *radicola* Pers.) and their hybrids; III. Meiotic abnormalities. *Cytologia*, Tokyo, 44:1-5, 1979.
- DEL DUCA, L.J.A. Índices meiôuticos em trigos brasileiros e estudos comparativos entre comportamento citológico, fatores ambientais e componentes de produção. Porto Alegre, 1976. 239p. (Mestrado - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- DEWALD, G. & JALAL, S. Meiotic behaviour and fertility interrelationship in *Andropogon scoparius* and *A. gerardi*. *Cytologia*, Tokyo, 39:215-23, 1974.
- EGEL, R. Telomeres and chiasma terminalization. *Hereditas*, Lund, 91: 138-40, 1979.
- EINSET, J. Chromosome length in relation to transmission frequency of maize trisomes. *Genetics*, Princeton, 28:349-64, 1943.

- ELLIOT, C.G. The effect of temperature on chiasma frequency. *Heredity*, London, 9:385-98, 1955.
- FALCÃO, T.M.M.A.; MORAES-FERNANDES, M.I.B.; ZANETINI, M.H.B. Genotypic and environmental effect on meiotic behaviour and the influence of chromosomal abnormalities on fertility of hexaploid triticale (x Triticosecale Wittmack). *Rev.Bras.Genet.*, Ribeirão Preto, 4:611-24, 1981.
- FAYED, A.H.; MANDOUR, A.S.; ISMAIL, M.A. Variation in chiasma frequency in various types of *Vicia faba* L. *Ind.J.Genet. & Plant Breed.*, New Delhi, 44:460-4, 1984.
- FISCHER, H.E. & EINSET, J. Monosomic maize. *Maize Genet.Coop.News Letter*, Urbana, 14:13-4, 1940.
- GALE, M.D. & REES, H. Genes controlling chiasma frequency in *Hordeum*. *Heredity*, London, 25:393-410, 1970.
- GIRALDEZ, R. & LACADENA, J.R. Relationships between frequency, localization and errors in chiasma formation in desynaptic rye. *Chromosoma*, Berlin, 66:193-204, 1978.
- GOLUBOVSKAYA, I.N. & MASHNENKOV, A.S. Genetic control of chromosome segregation during the first meiotic division. *Maize Genet. Coop. News Letter*, Urbana, 55:78-81, 1981.
- GOTTSCHALK, W. & KAUL, M.L.H. The genetic control of microsporogenesis in higher plants. *The Nucleus*, Calcutta, 17:133-66, 1974.

- GRANT, V. The regulation of recombination in plants. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, New York, 23:337-63, 1958.
- HALLAUER, A.R. & MIRANDA FILHO, J.B. *Quantitative genetics in maize breeding*. Ames, Iowa State University Press, 1981. 468p.
- HANSON, G.P. B-chromosomes-stimulated crossing over in maize. *Genetics*, Princeton, 63:601-9, 1969.
- HAYMAN, B.I. The theory and analysis of diallel crosses. *Genetics*, Princeton, 39:789-809, 1954.
- HENDERSON, S.A. Chromosome pairing, chiasmata and crossing-over. In: LIMA DE FARIA, A., ed. *Handbook of molecular cytology*. Amsterdam, 1969. cap.14, p.326-57.
- HENRIQUES-GIL, N.; SANTOS, J.L.; GIRALDEZ, R. Genotype-dependent effect of B-chromosomes of chiasma frequency in *Eyprepocnemis plorans* (Acrididae: Orthoptera). *Genetica*, S-Gravenhage, 59:223-7, 1982a.
- HENRIQUES-GIL, N.; SANTOS, J.L.; GIRALDEZ, R. B-chromosome polymorphism and interchromosomal chiasma interference in *Eyprepocnemis plorans* (Acrididae: Orthoptera). *Chromosoma*, Berlin, 85:349-59, 1982b.
- HILL, H. & CARNAHAN, H.L. An evaluation of effects of two temperatures on micronuclei per quartet in *Bremus inermis* Leyss. *Crop Sci.*, Madison, 3:73-4, 1963.

- HILLEL, J.; FELDMAN, N.W.; SIMCHEN, G. Mating systems and population structure in two closely related species of the wheat groups; III. Chiasma frequency and population structure. *Heredity*, London, 31:1-9, 1973.
- HOTTA, Y.; CHANDLEY, A.C.; STERN, H. Meiotic crossing-over in lily and mouse. *Nature*, London, 269:240-2, 1977.
- HOTTA, Y. & STERN, H. DNA scission and repair during pachytene in *Lilium*. *Chromosoma*, Berlin, 46:279-96, 1974.
- HOTTA, Y. & STERN, H. The organization of DNA segments undergoing repair synthesis during pachytene. *Chromosoma*, Berlin, 89:127-37, 1984.
- HOTTA, Y.; TABATA, S.; BOUCHARD, R.A.; PIÑÓN, R.; STERN, H. General recombination mechanisms in extracts of meiotic cells. *Chromosoma*, Berlin, 93:140-51, 1985.
- HSAM, S.L.K. & LARTER, E.N. Identification of cytological and agronomic characters affecting the reproductive behavior of hexaploid triticale. *Can. J. Genet. Cytol.*, Ottawa, 15:197-204, 1973.
- IMAI, H. & MORIWAKI, K. A re-examination of chiasma terminalization and chiasma frequency in male mice. *Chromosoma*, Berlin, 85:439-52, 1982.
- JOHN, B. & KING, M. Pseudoterminalization, terminalization, and non-chiasmata modes of terminal association. *Chromosoma*, Berlin, 92:89-99, 1985.

- JOHNSON, R.T. & RAO, P.N. Mammalian cell fusion: induction of premature chromosome condensation in interphase nuclei. *Nature*, London, 226:717-22, 1970.
- JONES, G.H. The control of chiasma distribution in rye. *Chromosoma*, Berlin, 22:69-90, 1967.
- JONES, G.H. Giemsa C-banding of rye meiotic chromosomes and the nature of "terminal" chiasmata. *Chromosoma*, Berlin, 66:45-57, 1978.
- JONES, G.H. & REES, H. Genotypic control of chromosome behaviour in rye; VIII. The distribution of chiasmata within pollen mother cells. *Heredity*, London, 19:719-30, 1964.
- JONES, G.H. & TEASE, C. Analysis of exchanges in differentially stained meiotic chromosomes of *Locusta migratoria* after BrDU-substitution and FPG staining; IV. The nature of "terminal" associations. *Chromosoma*, Berlin, 89:33-6, 1984.
- JONES, R.N. & REES, H. Genotypic control of chromosome behaviour in rye; XI. The influence of B-chromosomes on meiosis. *Heredity*, London, 22:333-47, 1967.
- KAMRA, O.P. Occurrence of binucleate and multinucleate pollen mother cells in *Hordeum*. *Hereditas*, Lund, 46:536-42, 1960a.
- KAMRA, O.P. Chromatin extrusion and cytotoxicity in pollen mother cells of *Hordeum*. *Hereditas*, Lund, 46:592-600, 1960b.

- KANDA, N. & KATO, H. Analysis of crossing-over in mouse meiotic cells by BrDU labelling technique. *Chromosoma*, Berlin, 78:113-21, 1980.
- KARP, A. & JONES, R.N. Cytogenetics of *Lolium perenne*; I. Chiasma frequency variation in inbred lines. *Theor.Appl.Genet.*, Berlin, 62:177-83, 1982.
- KARP, A. & JONES, R.N. Cytogenetics of *Lolium perenne*; II. Chiasma distribution in inbred lines. *Theor.Appl.Genet.*, Berlin, 64:137-45, 1983.
- KHUSH, G.S. *Cytogenetics of aneuploids*. New York, Academic Press, 1973. 301p.
- KING, M. & HAYMAN, D. Seasonal variation of chiasma frequency in *Phyllodactylus marmoratus* (Gray) (Gekkonidae-Repetilia). *Chromosoma*, Berlin, 69:131-54, 1978.
- KODURU, P.R.K. & RAO, M.K. Cytogenetics of synaptic mutants in higher plants. *Theor.Appl.Genet.*, Berlin, 59:197-214, 1981.
- LA FLEUR, T.D. & JALAL, S.M. Chromosomal aberrations and fertility interrelationships in prairie *Bromus inermis* Leyss. populations. *Cytologia*, Tokyo, 37:747-57, 1972.
- LAMM, R. Cytological studies on inbred rye. *Hereditas*, Lund, 22:217-40, 1936.

- LEIN, V. & LELLEY, T. A separate control for frequency and within-bivalent distribution of chiasmata in rye (*Secale cereale* L.). *Genome*, Ottawa, 29:419-24, 1987.
- LELLEY, T. Genetic control of chiasma frequency and distribution in rye *Secale cereale*. *Can.J.Genet.Cytol.*, Ottawa, 20:417-4, 1978.
- LEVAN, A. Syncyte formation in the pollen mother-cells of haploid *Phleum pratense*. *Hereditas*, Lund, 27:243-52, 1941.
- LIMA, M.; MIRANDA FILHO, J.B.; BOLLER GALLO, P. Inbreeding depression in Brazilian populations of maize (*Zea mays* L.). *Maydica*, Bergamo, 29:203-15, 1984.
- LOIDL, J. C-Band proximity of chiasmata and absence of terminalization in *Allium flavum* (Liliaceae). *Chromosoma*, Berlin, 73:45-51, 1979.
- LOVE, R.M. La citologia como ayuda practica al mejoramiento de los cereales. *Rev.Agr.Agron.*, Buenos Aires, 16:1-13, 1949.
- LOVE, R.M. Varietal differences in meiotic chromosome behaviour of Brazilian wheats. *Agron.J.*, Madison, 43:2-6, 1951.
- MA, T. Crossingover in maize under different light conditions. *Maydica*, Bergamo, 21:113-9, 1976.

- MAGUIRE, M.P. Comparison of univalent behaviour in desynaptic, asynaptic and several trisomics. *Maize Genet. Coop. News Letter*, Urbana, 51:86-7, 1977.
- MAGUIRE, M.P. Evidence for separate control of crossing-over and chiasma maintenance in maize. *Chromosoma*, Berlin, 65:173-83, 1978.
- MAGUIRE, M.P. Direct cytological evidence for true terminalization of chiasmata in maize. *Chromosoma*, Berlin, 71:283-7, 1979.
- MAUDLIN, J. & EVANS, E.P. Chiasma distribution in mouse oocytes during diakinesis. *Chromosoma*, Berlin, 80:49-56, 1980.
- MAYNARD-SMITH, J. Why the genome does not congeal? *Nature*, London, 268: 693-6, 1977.
- McCLINTOCK, B. Chromosome organization and genic expression. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, New York, 16:13-47, 1951.
- McCLINTOCK, B. & HILL, H.E. The cytological identification of the chromosome associate with the r-g linkage group in *Zea mays*. *Genetics*, Princeton, 16:175-90, 1931.
- MELNYCZENKO, W.I. The effect of B-chromosomes on intragenic recombination. *Maize Genet. Coop. News Letter*, Urbana, 44:203-5, 1970.

- MERKER, A. Cytogenetic investigations in hexaploid triticale. I. Meiosis, aneuploid and fertility. *Hereditas*, Lund, 68:281-90, 1971.
- MILLER, O.L. Cytological studies in asynaptic maize. *Genetics*, Princeton, 48:1445-66, 1963.
- MIRANDA FILHO, J.B.de. Cruzamentos dialélicos e síntese de compostos de milho (*Zea mays* L.) com ênfase na produtividade e no porte da planta. Piracicaba, 1974. 115p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- MOENS, P.B. Ultrastructural studies of chiasma distribution. *Ann. Rev. Genet.*, Palo Alto, 12:433-50, 1978.
- MOHAMED, A.H. & SHOEIB, E.A. Inheritance of quantitative characters in *Zea mays*; IV. Relationship between knob frequency and combining ability. *Can.J.Genet.Cytol.*, Ottawa, 7:388-93, 1965.
- MORAES-FERNANDES, M.I.B. Estudo da instabilidade meiôtica em cultivares de trigo. Efeito genotípico, relação com fertiliade e seleção de plantas estáveis. *Pesq.Agropec.Bras.*, Brasília, 17:1177-91, 1982.
- MORAES-FERNANDES, M.I.B.; ZANETTINI, M.H.B.; GUERRA, M.; DEL DUCA, L.J.A.; SERENO, M.J.C.; ZANELLA, C.C. Instabilidade cromossômica e adaptação em trigo. In: AGUIAR-PERECIN, M.L.R.de.; MARTINS, P.S.; BANDEL, G., ed. *Tópicos de Citogenética e Evolução de Plantas*. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética, 1984. p.69-110. (Colóquio sobre Citogenética e Evolução de Plantas, 1, Piracicaba, 1984).

- MORGAN JUNIOR, D.T. Plasmodial microsporocytes, aneuploid metaphase I and asynapsis in X-ray induced twins. *Maize Genet. Coop. News Letter*, Urbana, 30:83-4, 1956.
- MORRIS, R. & ISIKAN, M.H. Cytological studies on inbred lines of maize. *Can. J. Genet. Cytol.*, Ottawa, 6:508-15, 1964.
- MÜNTZING, A. & AKDIK, S. Cytological disturbances in the first inbred generations of rye. *Hereditas*, Lund, 34:485-509, 1948.
- MYERS, W.M. & HILL, H.D. Increased meiotic irregularity accompanying inbreeding in *Dactylis glomerata* L. *Genetics*, Princeton, 28:383-97, 1943.
- NARAIN, P. Chromosomal mosaicism in the microsporocytes of *Gloriosa*. *Cytologia*, Tokyo, 45:271-90, 1980.
- NEL, P.M. An effect of B chromosomes on crossing over in chromosome 5. *Maize Genet. Coop. News Letter*, Urbana, 43:54-5, 1969.
- NEL, P.M. The modification of crossing over in maize by extraneous chromosomal elements. *Theor. Appl. Genet.*, Berlin, 43:196-202, 1973.
- ORELLANA, J. & GIRALDEZ, R. Metaphase I bound arms and crossing-over frequency in rye. I. Open pollinated varieties. *Chromosoma*, Berlin, 84:439-49, 1981.

- PAGLIARINI, M.S. Controle genético da frequência de quiasmas em milho (*Zea mays* L.). Piracicaba, 1980. 113p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- PAGLIARINI, M.S. Correlação entre frequência de quiasmas e capacidade de combinação em linhagens autofecundadas de milho (*Zea mays* L.): uma análise prévia. *Rev.Unimar*, Maringá, 5:37-46, 1983.
- PAGLIARINI, M.S. & AGUIAR-PERECIN, M.L.R.de. Controle genético da frequência de quiasmas em milho (*Zea mays* L.). *Relatório Científico do Departamento de Genética*, Piracicaba, 13:190-201, 1979.
- PAGLIARINI, M.S. & AGUIAR-PERECIN, M.L.R.de. Estabilidade de híbridos simples de milho (*Zea mays* L.) na formação de quiasmas. *Rev.Unimar*, Maringá, 5:47-54, 1983.
- PAGLIARINI, M.S.; MIRANDA FILHO, J.B.; AGUIAR-PERECIN, M.L.R.de. Correlação entre frequência de quiasmas e capacidade de combinação em linhagens autofecundadas de milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 15., Maceió, 1984. *Anais*. Sete Lagoas, EMBRAPA/CNPMS, 1986a. p.183-8.
- PAGLIARINI, M.S.; GERALDI, I.O.; AGUIAR-PERECIN, M.L.R.de. Análise da frequência de quiasmas no cruzamento dialélico entre linhagens de milho com alta e baixa capacidade de combinação. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 15., Maceió, 1984. *Anais*. Sete Lagoas, EMBRAPA/CNPMS, 1986b. p.189-94.

- PANTULU, J.V. & MANGA, V. Cytology of inbreds and F₁ hybrids of pearl millet. *Theor.Appl.Genet.*, Berlin, 42:69-74, 1972.
- PARKER, J.S. Chromosome-specific control of chiasma formation. *Chromosoma*, Berlin, 49:391-406, 1975.
- PEACOCK, W.J. Replication, recombination and chiasmata in *Goniaea australasiae* (Orthoptera: Acrididae). *Genetics*, Princeton, 65:593-617, 1970.
- PEETERS, J.P.; GRIFFITHS, J.F.; WILKES, G. "In vivo" karyotypic modifications following spontaneous cell fusion in maize (*Zea mays* L.). *Can.J.Genet.Cytol.*, Ottawa, 27:580-5, 1985.
- PIMENTEL GOMES, F. *Curso de estatística experimental*. 7.ed. São Paulo, Nobel, 1977.
- POWERS, L. Cytological and genetic studies of variability of strains of wheat derived from interspecific crosses. *J.Agr.Res.*, Washington, 44:797-831, 1932.
- PRICE, D.J. Variation in chiasma frequency in *Cepaea nemoralis*. *Heredity*, London, 32:211-7, 1974.

- PRICE, D.J. Chiasma frequency variation in *Cepaea hortensis* (Mull) and a comparison with *C. nemoralis* (L.). *Genetica*, S-Gravenhage, 45:497-508, 1975.
- PRICE, D.J. & BANTOCK, C.R. Marginal populations of *Cepaea nemoralis* (L.) on the Brendon Hills, England; II. Variation in chiasma frequency. *Evolution*, Lancaster, 29:278-86, 1975.
- PRICE, D.J. & McBRIDE, J. Chiasma frequency variation in *Cepaea* populations from a localized area of south-west England. *Caryologia*, Piza, 34:363-75, 1981.
- PRICE, S. Cytological studies in *Saccharum* and allied genera; I. Syncytes in certain clones of *Saccharum* and *Erianthus*. *Cytologia*, Tokyo, 21:21-37, 1956.
- QUEIROZ, M.A. Correlações genéticas e fenotípicas em progênie de meios-irmãos de milho (*Zea mays* L.) e suas implicações no melhoramento. Piracicaba, 1969. 71p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- RAKHA, F.A.; EL-METAINY, A.Y.; SABRAH, N.S. General and specific combining ability for earliness characters in maize in relation to chromosome knob number. *Alex.J.Agric.Res.*, Alexandria, 27:217-22, 1979.
- REES, H. Genotypic control of chromosome behaviour in rye; I. Inbred lines. *Heredity*, London, 9:93-116, 1955.

- REES, H. Genotypic control of chromosome behaviour in rye. IV. The origin of new variation. *Heredity*, London, 11:185-93, 1957.
- REES, H. & AHMAD, K. Chiasma frequencies in *Lolium* populations. *Evolution*, Lancaster, 17:575-9, 1963.
- REES, H. & DALE, P.J. Chiasmata and variability in *Lolium* and *Festuca* populations. *Chromosoma*, Berlin, 47:335-51, 1974.
- REES, H. & THOMPSON, J.B. Localization of chromosome breakage at meiosis. *Heredity*, London, 9:399-407, 1955.
- REES, H. & THOMPSON, J.B. Genotypic control of chromosome behaviour in rye; III. Chiasma frequency in homozygotes and heterozygotes. *Heredity*, London, 10:409-24, 1956.
- REES, H. & THOMPSON, J.B. Genotypic control of chromosome behaviour in rye; V. The distribution pattern of chiasmata between pollen mother-cells. *Heredity*, London, 12:101-11, 1958.
- RHOADES, M.M. The induction of crossing over by B chromosomes. *Maize Genet. Coop. News Letter*, Urbana, 42:79-83, 1968.
- ROBINSON, T.J. & ELDER, F.F.B. Multiple common fragile sites are expressed in the genome of the laboratory rat. *Chromosoma*, Berlin, 96:45-9, 1987.

- RUFAS, J.S.; GIMÉNEZ-ABIAN, J.; SUJA, J.A.; GARCIA DE LA VEGA, C.
Chromosome organization in meiosis revealed by light microscope analysis
of silver-stained cores. *Genome*, Ottawa, 29:706-12, 1987.
- RUFAS, J.S.; GIMÉNEZ-ABIAN, J.; GARCIA DE LA VEGA, C.; GOSALVEZ, J.
Recombination within extra segments: evidence from the grasshopper
Chorthippus jucundus. *Chromosoma*, Berlin, 96:91-101, 1988.
- RUFAS, J.S.; GIMÉNEZ-MARTIN, G.; ESPONDA, P. Presence of a chromatid core
in mitotic and meiotic chromosomes of grasshoppers. *Cell Biol.Int.Rep.*,
London, 6:261-7, 1982.
- RUFAS, J.S.; GOSALVEZ, J.; GIMÉNEZ-MARTIN, G.; ESPONDA, P. Localization
and development of kinetochores and a chromatid core during meiosis in
grasshoppers. *Genetica*, S-Gravenhage, 61:233-8, 1983.
- SANTOS, J.L.; CIPRÉS, G.; LACADENA, J.R. Metaphase I chiasmata in silver-
stained cores of bivalents in grasshopper spermatocytes. *Genome*, Ottawa,
29:235-8, 1987.
- SAPRE, A.B. & DESHPANDE, D.S. A change in chromosome number due to
cytomixis in an interspecific hybrid of *Coix* L. *Cytologia*, Tokyo, 52:
167-74, 1987.
- SARVELLA, P. Cytomixis and the loss of chromosomes in meiotic and somatic
cells of *Gossypium*. *Cytologia*, Tokyo, 23:14-24, 1958.

- SARBHOY, R.K. Spontaneous occurrence of cytomixis and syndiploidy in *Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub. *Cytologia*, Tokyo, 45:375-9, 1980.
- SAURA, F. El índice meiótico de trigos argentinos y su valor fitotécnico. *Rev. Fac. Agron. Vet.*, 14:76-84, 1957.
- SHARP, P.J. & HAYMAN, D.L. Variation in chiasma frequency in male *Trichosurus vulpecula* (Marsupialia: Mammalia). *Genetica*, S-Gravenhage, 66:145-50, 1985.
- SHAW, D.D. Genetic and environmental components of chiasma control; I. Spatial and temporal variation in *Schistocerca* and *Stethophyma*. *Chromosoma*, Berlin, 34:281-301, 1971.
- SHAW, D.D. Genetic and environmental components of chiasma control; III. Genetic analysis of chiasma frequency variation in two selected lines of *Schistocerca gregaria* Forsk. *Chromosoma*, Berlin, 365-74, 1974.
- SISODIA, N.S.; LARTER, E.N.; BOYD, W.J.R. Effect of planting date on the meiotic and reproductive behaviour of hexaploid Triticale. *Crop Sci.*, Madison, 10:543-5, 1970.
- SMITH, S.E. & MURPHY, R.P. Relationships between inbreeding, meiotic irregularity and fertility in alfalfa. *Can. J. Genet. Cytol.*, Ottawa, 28: 130-7, 1986.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. *Biometry*. 2.ed. New York, W.H. Freeman, 1981. 859p.

- SOODAN, A.S. & WAFAI, B.A. Spontaneous occurrence of cytotoxicity during microsporogenesis in Almond (*Prunus amygdalus* Batsch.) and Peach (*P. persica* Batsch.). *Cytologia*, Tokyo, 52:361-4, 1987.
- SRIVASTAVA, H.K. Heterosis for chiasma frequency and quantitative traits in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor. Appl. Genet.*, Berlin, 56: 25-9, 1980a.
- SRIVASTAVA, H.K. Correlation between chiasma frequency and quantitative traits in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Theor. Appl. Genet.*, Berlin, 56:113-7, 1980b.
- SRIVASTAVA, H.K. Chiasma frequency and heterosis in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Turrialba*, Turrialba, 31:147-54, 1981.
- SRIVASTAVA, H.K. & BALYAN, H.S. Increased chiasma frequency in some hybrids of pearl millet. *J. Heredity*, Washington, 68:338-40, 1977.
- STEBBINS, G.L. *Chromosomal evolution in higher plants*. London, Edward Arnold, 1971. 216p.
- STEEL, R.G.D. & TORRIE, J.H. *Principles and procedures of statistics*. New York, MacGraw-Hill Book, 1960. 481p.
- STERN, H. & HOTTA, Y. Small nuclear RNA molecules that regulate nuclease accessibility in specific chromatin regions of meiotic cells. *Cell*, Cambridge, 27:309-19, 1981.

- STUBBS, L. & STERN, H. DNA synthesis at selective sites during pachytene in mouse spermatocytes. *Chromosoma*, Berlin, 93:529-36, 1986.
- SUN, S. & REES, H. Genotypic control of chromosome behaviour in rye; III. Unadaptive heterozygotes. *Heredity*, London, 19:357-67, 1964.
- SYBENGA, J. *General cytogenetics*. Amsterdam, North-Holland, 1972. 359p.
- TAKATS, S.T. Chromatin extrusion and DNA transfer during microsporogenesis. *Chromosoma*, Berlin, 10:430-53, 1959.
- TEASE, C. & JONES, G.H. Analysis of exchanges in differentially stained meiotic chromosomes of *Locusta migratoria* after BrDU-substitution and FPG staining; I. Crossover exchanges in monochiasmate bivalents. *Chromosoma*, Berlin, 69:163-78, 1978.
- TEHRANI, P.A. & WRICKE, G. Correlation between chiasma frequency and quantitative traits in rye (*Secale cereale* L.). *Z. Pflanzenzüchtung*, Berlin, 79:1-5, 1977.
- TUCIĆ, N.; AYALA, F.J.; MARINKOVIĆ, D. Correlation between recombination frequency and fitness in *Drosophila melanogaster*. *Genetica*, S-Gravenhage, 56:61-9, 1981.
- VILLAMIZAR, N.R. Estudo comparativo da freqüência de quiasmas em microsporoócitos em diversas variedades e linhagens autofecundadas de milho (*Zea mays* L.). Piracicaba, 1976. 74p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).

- VILLAMIZAR, N.R. & AGUIAR, M.L.R.de. Frequência de quiasmas nos microsporo-
rócitos de algumas variedades e linhagens com diversos ciclos de auto-
fecundação em milho. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MILHO E SORGO, 11., Goiã
nia, 1976. *Anais.* p.141-6.
- VILARDI, J.C. Chromosome polymorphisms and chiasma frequency in two
populations of *Staurorhectus longicornis* (Orthoptera - Acrididae).
Cytologia, Tokyo, 49:513-28, 1984.
- VILARDI, J.C. Meiotic behaviour in a population of *Dichroplus elongatus*
(Orthoptera-Acrididae). *Caryologia*, Piza, 38:147-60, 1985.
- WARD, E.J. Effects of various segments of the B chromosome on recombination
and nondisjunction. *Maize Genet. Coop. News Letter*, Urbana, 46:53-9,
1972.
- WARD, E.J. The heterochromatin B chromosome of maize: the segments
affecting recombination. *Chromosoma*, Berlin, 43:177-86, 1973.
- WARD, E.J. The effect of B chromosomes on chiasmata. *Maize Genet. Coop.*
News Letter, Urbana, 50:109, 1976.
- WARREN, S.T.; ZHANG, F.; LICAMELI, G.R.; PETERS, J.F. The fragile x site
in somatic cell hybrids; an approach for molecular cloning of fragile
sites. *Science*, Lancaster, 237:420-3, 1987.

- WEBER, D. Proof that univalent chromosomes undergoing equatorial division at anaphase I are not lost during the second meiotic division. *Maize Genet. Coop. News Letter*, Urbana, 54:90, 1980.
- WEISS, M.G.; TAYLOR, L.H.; JOHNSON, I.J. Correlations of breeding behaviour with clonal performance of orchardgrass plants. *Agron. J.*, Madison, 594-602, 1951.
- WHITEHOUSE, C.; EDGAR, L.A.; JONES, G.H., PARKER, J.S. The population cytogenetics of *Crepis capillaris*; I. Chiasma variation. *Heredity*, London, 47:95-103, 1981.
- WILSON, J.Y. Chiasma frequency in relation to temperature. *Genetica*, S-Gravenhage, 29:290-302, 1959.
- ZANETTINI, M.H.B. Comportamento meiótico em cultivares de trigo submetidas a diferentes condições ambientais. Porto Alegre, 1982. 213p. (Doutorado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul).
- ZARCHI, Y.; SIMCHEN, G.; HILLEL, J.; SCHAAP, T. Chiasmata and the breeding system in wild populations of diploid wheats. *Chromosoma*, Berlin, 38:77-94, 1972.
- ZECEVIC, L.M. Cytogenetic study in inbred lines of maize; I. Chiasma frequency at diplotene. *Zborn. Rad. Biol. Inst.*, Beograd, 4:1-32, 1960.
- ZECEVIC, L.M. Cytogenetic study of inbred lines of maize; II. Chiasma frequency at diakinesis. *Zborn. Rad. Biol. Inst.*, Beograd, 5:1-43, 1962.

A P Ê N D I C E

Tabela 3. Análise da variância da frequência de quiásmas por microsporó-
cito em linhagens e testadores e os respectivos testes de Tukey

| FV | GL | QM | F |
|----------------------------|------|----------|----------------------|
| Tratamentos | 43 | 0,120374 | 10,6165** |
| Grupos | 2 | 0,311665 | 27,4876** |
| Linh.Dentado vs Linh.Flint | 1 | 0,127870 | 11,2776** |
| Linhagens vs testadores | 1 | 0,494859 | 43,6445** |
| Linhagens Flint | 24 | 0,116923 | 10,3125** |
| Baixa CC | 9 | 0,139513 | 12,3045** |
| Alta CC | 14 | 0,106919 | 9,4298** |
| Baixa CC vs Alta CC | 1 | 0,053668 | 4,7333* |
| Linhagens Dentado | 14 | 0,105632 | 9,3167** |
| Baixa CC | 9 | 0,121639 | 10,7281** |
| Alta CC | 4 | 0,068277 | 6,0217** |
| Baixa CC vs Alta CC | 1 | 0,110999 | 9,7896** |
| Testadores | 3 | 0,089447 | 7,8891** |
| Gen. rel. | 1 | 0,014194 | 1,3174 ^{ns} |
| Gen. não rel. | 1 | 0,056435 | 4,9773* |
| Gen. rel. vs gen.não rel. | 1 | 0,197712 | 17,4373** |
| Entre plantas | 396 | 0,011338 | 6,8876** |
| Dentro de plantas | 8360 | 0,001646 | |

CV = 2,42%

continua

Tabela 3. Continuação

| Teste de Tukey | | | | | |
|-----------------|---------|--------|-------------------|---------|--------|
| Linhagens Flint | | | Linhagens Dentado | | |
| CC | | Média | CC | | Média |
| B | LF-1345 | 4,5674 | B | LD-1808 | 4,5462 |
| A | LF-1332 | 4,5052 | A | LD-1581 | 4,5024 |
| A | LF-1350 | 4,4788 | A | LD-1715 | 4,5049 |
| B | LF-1344 | 4,4781 | A | LD-1657 | 4,4934 |
| A | LF-1278 | 4,4767 | B | LD-1823 | 4,4934 |
| A | LF-1276 | 4,4487 | A | LD-1657 | 4,4852 |
| A | LF-1406 | 4,4397 | B | LD-1267 | 4,4437 |
| A | LF-1389 | 4,4344 | B | LD-1737 | 4,4094 |
| A | LF-1086 | 4,4265 | B | LD-1187 | 4,3814 |
| A | LF-1064 | 4,4108 | B | LD-1195 | 4,3706 |
| A | LF-1383 | 4,3975 | A | LD-1609 | 4,3657 |
| A | LF-1055 | 4,3946 | B | LD-1234 | 4,3553 |
| B | LF-1336 | 4,3846 | A | LD-1622 | 4,3480 |
| B | LF-1419 | 4,3842 | B | LD-1794 | 4,2137 |
| B | LF-1408 | 4,3700 | B | LD-1741 | 4,2084 |
| B | LF-1065 | 4,3594 | | | |
| B | LF-1282 | 4,3573 | | | |
| A | LF-1371 | 4,3495 | | | |
| A | LF-1334 | 4,3484 | | | |
| A | LF-1244 | 4,2925 | | | |
| B | LF-1326 | 4,2262 | | | |
| A | LF-1284 | 4,2127 | | | |
| B | LF-1320 | 4,2042 | | | |
| B | LF-1313 | 4,2000 | | | |
| A | LF-1092 | 4,1298 | | | |

ns: Não significativo pelo teste F.

*: Significativo, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F.

**: Significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

Médias seguidas pela mesma barra não diferem, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

CC: Capacidade de combinação.

Gen.rel.: Geneticamente relacionado.

Gen.não rel.: Geneticamente não relacionado.

Tabela 4. Análise da variância das variâncias dentro de plantas da frequência de quiasmas por microsporócito em linhagens e testadores

| FV | GL | QM(10^{-3}) | F |
|----------------------------|-----|-----------------|----------------------|
| Tratamentos | 43 | 0,4158 | 1,5212 ^{ns} |
| Grupos | 2 | 0,2150 | 0,7869 ^{ns} |
| Linh.Dentado vs linh.Flint | 1 | 0,0087 | 0,0318 ^{ns} |
| Linhagens vs testadores | 1 | 0,0421 | 0,1541 ^{ns} |
| Linhagens Flint | 24 | 0,5786 | 2,1180** |
| Baixa CC | 9 | 0,9612 | 3,5179** |
| Alta CC | 14 | 0,3649 | 1,3265 ^{ns} |
| Baixa CC vs Alta CC | 1 | 0,1280 | 0,4685 ^{ns} |
| Linhagens Dentado | 14 | 0,0653 | 0,2393 ^{ns} |
| Baixa CC | 9 | 0,0778 | 0,2844 ^{ns} |
| Alta CC | 4 | 0,0500 | 0,1830 ^{ns} |
| Baixa CC vs Alta CC | 1 | 0,0151 | 0,0553 ^{ns} |
| Testadores | 3 | 0,4433 | 1,6224* |
| Gen. rel. | 1 | 0,1456 | 0,5329 ^{ns} |
| Gen. não rel. | 1 | 0,0042 | 0,0154 ^{ns} |
| Gen.rel. vs gen.não rel. | 1 | 1,1800 | 4,3192* |
| Resíduo | 396 | 0,2732 | |
| | | | CV = 108,66% |

ns: Não significativo pelo teste F.

*: Significativo, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F.

** : Significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

CC: Capacidade de combinação.

Gen.rel.: geneticamente relacionado.

Gen.não rel.: Geneticamente não relacionado.

Tabela 5. Análise da variância da frequência de quismas intersticiais em linhagens e testadores e os respectivos testes de Tukey

| FV | GL | QM | F |
|----------------------------|------|----------|----------------------|
| Tratamentos | 43 | 0,119766 | 8,8146** |
| Grupos | 2 | 0,023216 | 1,7086 ^{ns} |
| Linh.Dentado vs Linh.Flint | 1 | 0,012094 | 0,8900 ^{ns} |
| Linhagens vs testadores | 1 | 0,034339 | 2,5273 ^{ns} |
| Linhagens Flint | 24 | 0,127108 | 9,3551** |
| Baixa CC | 9 | 0,124905 | 9,1927** |
| Alta CC | 14 | 0,121874 | 8,9697** |
| Baixa CC vs Alta CC | 1 | 0,220220 | 16,2078** |
| Linhagens Dentado | 14 | 0,118774 | 8,7418** |
| Baixa CC | 9 | 0,162330 | 11,9472** |
| Alta CC | 4 | 0,102565 | 7,5486** |
| Baixa CC vs Alta CC | 1 | 0,090255 | 6,6426** |
| Testadores | 3 | 0,03070 | 2,2426* |
| Gen.rel. | 1 | 0,001145 | 0,0842 ^{ns} |
| Gen.não rel. | 1 | 0,071521 | 5,2638* |
| Gen.rel. vs gen.não rel. | 1 | 0,018745 | 1,3796 ^{ns} |
| Entre plantas | 396 | 0,013587 | 1,9635** |
| Dentro de plantas | 8360 | 0,006920 | |

CV = 2,89%

continua

Tabela 5. Continuação

| Teste de Tukey | | | | | |
|-----------------|---------|--------|-------------------|---------|--------|
| Linhagens Flint | | | Linhagens Dentado | | |
| CC | | Média | CC | | Média |
| B | LF-1344 | 2,1886 | B | LD-1267 | 2,1865 |
| B | LF-1345 | 2,1568 | B | LD-1808 | 2,1547 |
| B | LF-1419 | 2,1161 | A | LD-1715 | 2,1402 |
| A | LF-1383 | 2,0338 | A | LD-1657 | 2,1321 |
| A | LF-1406 | 2,0236 | B | LD-1782 | 2,1003 |
| A | LF-1371 | 2,0215 | B | LD-1737 | 2,0878 |
| A | LF-1332 | 1,9823 | A | LD-1609 | 2,0744 |
| B | LF-1408 | 1,9757 | B | LD-1794 | 2,0214 |
| A | LF-1278 | 1,9576 | B | LD-1741 | 1,9908 |
| A | LF-1065 | 1,9157 | B | LD-1823 | 1,9286 |
| A | LF-1092 | 1,8791 | A | LD-1622 | 1,8603 |
| A | LF-1350 | 1,8755 | A | LD-1657 | 1,8271 |
| A | LF-1334 | 1,8350 | B | LD-1234 | 1,7888 |
| B | LF-1320 | 1,8146 | B | LD-1187 | 1,7877 |
| B | LF-1313 | 1,8146 | B | LD-1195 | 1,7388 |
| A | LF-1086 | 1,8061 | | | |
| A | LF-1244 | 1,8003 | | | |
| B | LF-1282 | 1,7983 | | | |
| A | LF-1055 | 1,7983 | | | |
| A | LF-1064 | 1,7879 | | | |
| A | LF-1276 | 1,7786 | | | |
| B | LF-1336 | 1,7470 | | | |
| A | LF-1284 | 1,7393 | | | |
| A | LF-1389 | 1,7379 | | | |
| B | LF-1326 | 1,5089 | | | |

ns: Não significativo pelo teste F.

*: Significativo, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F.

** : Significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

Médias seguidas pela mesma barra não diferem, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

CC: Capacidade de combinação.

Gen.rel.: Geneticamente relacionado.

Gen.não rel.: Geneticamente não relacionado.

Tabela 6. Análise da variância das variâncias dentro de plantas da frequência de quiasmas intersticiais em linhagens e testadores

| FV | GL | QM(10^{-3}) | F |
|----------------------------|-----|-----------------|----------------------|
| Tratamentos | 43 | 0,3965 | 1,3700 ^{ns} |
| Grupos | 2 | 0,0315 | 0,1088 ^{ns} |
| Linh.Dentado vs linh.Flint | 1 | 0,6266 | 2,1652 ^{ns} |
| Linhagens vs testadores | 1 | 0,0038 | 0,0131 ^{ns} |
| Linhagens Flint | 24 | 0,2002 | 0,6911 ^{ns} |
| Baixa CC | 9 | 0,2264 | 0,7823 ^{ns} |
| Alta CC | 14 | 0,1944 | 0,6717 ^{ns} |
| Baixa CC vs Alta CC | 1 | 0,0457 | 0,1579 ^{ns} |
| Linhagens Dentado | 14 | 0,7510 | 2,5942 ^{**} |
| Baixa CC | 9 | 0,9653 | 3,3355 ^{**} |
| Alta CC | 4 | 0,2639 | 0,9119 ^{ns} |
| Baixa CC vs Alta CC | 1 | 0,7710 | 2,6641 ^{ns} |
| Testadores | 3 | 0,3660 | 1,2642 ^{ns} |
| Gen.rel. | 1 | 0,4215 | 1,4565 ^{ns} |
| Gen.não rel. | 1 | 0,0855 | 0,2951 ^{ns} |
| Gen.rel. vs gen.não rel. | 1 | 0,5910 | 2,0421 ^{ns} |
| Resíduo | 396 | 0,2895 | |
| | | | CV = 73,48% |

ns: Não significativo pelo teste F.

** : Significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

CC: Capacidade de combinação.

Gen.rel.: Geneticamente relacionado.

Gen. não rel.: Geneticamente não relacionado.

Tabela 7. Análise da variância da frequência de quiasmas terminais em linhagens e testadores e os respectivos testes de Tukey

| FV | GL | QM | F |
|----------------------------|------|----------|----------------------|
| Tratamentos | 43 | 0,281048 | 5,1826** |
| Grupos | 2 | 1,136842 | 20,9637** |
| Linh.Dentado vs linh.Flint | 1 | 1,020072 | 18,8105** |
| Linhagens vs testadores | 1 | 1,253611 | 23,1169** |
| Linhagens Flint | 24 | 0,236187 | 4,3669** |
| Baixa CC | 9 | 0,447827 | 8,2488** |
| Alta CC | 14 | 0,113365 | 2,0901** |
| Baixa CC vs Alta CC | 1 | 0,066098 | 1,2188 ^{ns} |
| Linhagens Dentado | 14 | 0,235324 | 4,3394** |
| Baixa CC | 9 | 0,261089 | 0,2077* |
| Alta CC | 4 | 0,229578 | 4,2335** |
| Baixa CC vs Alta CC | 1 | 0,026436 | 0,4874 ^{ns} |
| Testadores | 3 | 0,277725 | 5,1213** |
| Gen.rel. | 1 | 0,048019 | 0,8855 ^{ns} |
| Gen.não rel. | 1 | 0,546912 | 10,0852** |
| Gen.rel. vs gen.não rel. | 1 | 0,238245 | 4,3933* |
| Entre plantas | 396 | 0,054229 | 20,4978** |
| Dentro de plantas | 8360 | 0,002646 | |

CV = 12,01%

continua

Tabela 7. Continuação

| Médias | | | |
|-----------------|----------------|-------------------|----------------|
| Linhagens Flint | | Linhagens Dentado | |
| Baixa CC | Alta CC | Baixa CC | Alta CC |
| LF-1345 4,1239 | LF-1389 4,1939 | LD-1823 4,1511 | LD-1715 4,2253 |
| LF-1336 4,1196 | LF-1276 4,1756 | LD-1808 4,1078 | LD-1657 4,0596 |
| LF-1065 4,0704 | LF-1350 4,1599 | LD-1187 4,1065 | LD-1609 4,0566 |
| LF-1282 4,0675 | LF-1332 4,1441 | LD-1195 4,1045 | LD-1622 4,0133 |
| LF-1326 4,0314 | LF-1064 4,1347 | LD-1234 4,0653 | LD-1581 3,9527 |
| LF-1344 4,0066 | LF-1086 4,1320 | LD-1782 4,0537 | |
| LF-1408 4,0049 | LF-1278 4,1177 | LD-1737 3,9885 | |
| LF-1419 3,9421 | LF-1055 4,1052 | LD-1267 3,8973 | |
| LF-1320 3,8900 | LF-1334 4,0424 | LD-1741 3,8198 | |
| LF-1313 3,7617 | LF-1406 4,0409 | LD-1794 3,8000 | |
| | LF-1244 4,0048 | | |
| | LF-1383 4,0010 | | |
| | LF-1371 3,9521 | | |
| | LF-1284 3,9432 | | |
| | LF-1092 3,7885 | | |

ns: Não significativo pelo teste F.

*: Significativo, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F.

**: Significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

Médias seguidas pela mesma barra não diferem, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

CC: Capacidade de combinação.

Gen.rel.: Geneticamente relacionado.

Gen.não rel.: Geneticamente não relacionado.

Tabela 8. Análise da variância das variâncias dentro de plantas da frequência de quiassas terminais em linhagens e testadores

| FV | GL | QM(10^{-3}) | F |
|----------------------------|-----|-----------------|----------------------|
| Tratamentos | 43 | 2,0253 | 1,2957 ^{ns} |
| Grupos | 2 | 1,8360 | 1,1746 ^{ns} |
| Linh.Dentado vs linh.Flint | 1 | 1,9018 | 1,2167 ^{ns} |
| Linhagens vs testadores | 1 | 1,7712 | 1,1133 ^{ns} |
| Linhagens Flint | 24 | 2,0609 | 1,3737 ^{ns} |
| Baixa CC | 9 | 0,5245 | 0,3356 ^{ns} |
| Alta CC | 14 | 2,3826 | 1,5243 ^{ns} |
| Baixa CC vs Alta CC | 1 | 11,3870 | 7,2849 ^{ns} |
| Linhagens Dentado | 14 | 1,4991 | 0,9993 ^{ns} |
| Baixa CC | 9 | 0,8805 | 5,6330 ^{**} |
| Alta CC | 4 | 2,6713 | 1,7089 ^{ns} |
| Baixa CC vs Alta CC | 1 | 2,3778 | 1,5212 ^{ns} |
| Testadores | 3 | 3,8343 | 2,6020 [*] |
| Gen.rel. | 1 | 7,3814 | 4,7222 [*] |
| Gen.não rel. | 1 | 3,8391 | 2,4560 ^{ns} |
| Gen.rel. vs gen.não rel. | 1 | 0,2825 | 0,1807 ^{ns} |
| Resíduo | 396 | | |

CV = 61,89%

ns: Não significativo pelo teste F.

*: Significativo, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F.

** : Significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

CC: Capacidade de combinação.

Gen.rel.: Geneticamente relacionado.

Gen.não rel.: Geneticamente não relacionado.

Tabela 9. Frequência média de quiasmas (\bar{X}) por microsporócito, coeficiente de variação dentro de plantas (CVd) e entre plantas (CVe) para as três épocas de plantio

| Tratamento | Época I | | | Época II | | | Época III | | |
|-------------|-----------|--------|--------|-----------|--------|--------|-----------|--------|--------|
| | \bar{X} | CVe(%) | CVd(%) | \bar{X} | CVe(%) | CVd(%) | \bar{X} | CVe(%) | CVd(%) |
| C-408 | 19,71 | 4,13 | 8,38 | 19,05 | 3,72 | 7,02 | 19,45 | 2,74 | 6,90 |
| C-511 | 20,64 | 3,91 | 6,69 | 20,16 | 3,43 | 6,34 | 20,75 | 4,64 | 6,92 |
| Ag-301 | 19,81 | 5,59 | 7,65 | 19,98 | 4,54 | 7,16 | 19,89 | 2,03 | 6,89 |
| HS-1 | 19,61 | 2,34 | 6,25 | 20,26 | 5,42 | 7,50 | 20,36 | 3,33 | 5,74 |
| HS-2 | 19,71 | 4,12 | 6,65 | 19,50 | 2,40 | 7,14 | 19,69 | 4,49 | 6,60 |
| HS-3 | 19,98 | 2,33 | 6,71 | 19,96 | 3,73 | 7,74 | 20,28 | 3,29 | 6,55 |
| HTc-1 | 19,14 | 4,58 | 7,18 | 19,73 | 3,03 | 7,39 | 19,28 | 3,42 | 6,89 |
| HTc-2 | 19,40 | 4,47 | 7,18 | 18,74 | 5,05 | 7,34 | 18,63 | 3,74 | 7,17 |
| HTc-3 | 18,80 | 3,88 | 7,92 | 18,81 | 4,37 | 7,11 | 18,25 | 3,40 | 8,24 |
| C.Flint Br2 | 19,15 | 3,77 | 7,53 | 18,94 | 4,01 | 8,12 | 19,22 | 4,07 | 7,89 |
| C.PB-Flint | 19,14 | 5,06 | 8,15 | 19,86 | 10,60 | 7,59 | 19,39 | 5,64 | 7,53 |
| C.ESALQ-PB1 | 19,45 | 2,48 | 7,38 | 19,23 | 5,80 | 7,07 | 19,68 | 4,13 | 8,48 |
| LF-1559 | 18,22 | 7,25 | 9,14 | 17,66 | 7,63 | 9,86 | 19,83 | 5,34 | 6,64 |
| LF-1584 | 17,88 | 2,92 | 8,59 | 18,68 | 5,58 | 8,22 | 18,19 | 5,40 | 8,04 |
| LF-1562 | 17,43 | 4,53 | 10,11 | 18,09 | 2,44 | 9,23 | 18,66 | 2,64 | 9,24 |
| LD-877 | 18,48 | 4,47 | 8,36 | 18,73 | 3,34 | 9,00 | 18,66 | 3,45 | 9,25 |
| LD-913 | 17,98 | 4,40 | 10,41 | 17,72 | 3,49 | 9,90 | 18,03 | 4,49 | 10,00 |
| LD-926 | 19,11 | 3,28 | 8,87 | 18,56 | 2,58 | 8,00 | 19,09 | 2,49 | 9,06 |

Tabela 10. Análise da variância da frequência de quiemas para as três épocas de plantio

| FV | GL | QM | F |
|-----------------------------|--------|----------|------------|
| Grupos | 5 | 0,593073 | 66,6486** |
| Épocas | 2 | 0,041131 | 4,6262** |
| Grupos x épocas | 10 | 0,026748 | 3,0058** |
| Tratamentos/grupos | | | |
| Tratamentos/grupo 1 | 2 | 0,056535 | 6,3529** |
| Tratamentos/grupo 2 | 2 | 0,018339 | 2,0610** |
| Tratamentos/grupo 3 | 2 | 0,060018 | 13,4895** |
| Tratamentos/grupo 4 | 2 | 0,014842 | 1,6679ns |
| Tratamentos/grupo 5 | 2 | 0,024313 | 2,7323ns |
| Tratamentos/grupo 6 | 2 | 0,105945 | 11,9059** |
| Épocas x tratamento/grupo | | | |
| Época x tratamentos/grupo 1 | 4 | 0,004444 | 0,4993ns |
| Época x tratamentos/grupo 2 | 4 | 0,008676 | 0,9749ns |
| Época x tratamentos/grupo 3 | 4 | 0,014757 | 1,6580ns |
| Época x tratamentos/grupo 4 | 4 | 0,010467 | 1,1739ns |
| Época x tratamentos/grupo 5 | 4 | 0,061391 | 6,8989** |
| Época x tratamentos/grupo 6 | 4 | 0,005223 | 0,5870ns |
| Entre plantas | 486 | 0,008896 | 6,2847** |
| Dentro de plantas | 10.260 | 0,001416 | |
| | | | CV = 2,15% |

** : Significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

ns : Não significativo pelo teste F.

Tabela 11. Análise da variância da freqüência de quiassas para a linhagem LF-1559 nas três épocas de plantio e o respectivo teste de Tukey

| FV | GL | QM | F |
|-------------|----|--------|------------|
| Tratamentos | 2 | 0,1660 | 9,20** |
| Resíduo | 27 | 0,0180 | |
| | | | CV = 3,03% |

| Médias | |
|-----------|---------|
| Época III | - 4,560 |
| Época I | - 4,378 |
| Época II | - 4,312 |

** : Significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

Médias seguidas pela mesma barra não diferem, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 12. Análise da variância da freqüência de quiassas para a linhagem LF-1584 nas três épocas de plantio

| FV | GL | QM | F |
|-------------|----|--------|--------------------|
| Tratamentos | 2 | 0,0210 | 2,10 ^{ns} |
| Resíduo | 27 | 0,0100 | |
| | | | CV = 2,29% |

ns: Não significativo pelo teste F.

Tabela 13. Análise da variância da frequência de quiasmas para a linhagem LF-1562 nas três épocas de plantio e o respectivo teste de Tukey

| FV | GL | QM | F |
|-------------|----|--------|------------|
| Tratamentos | 2 | 0,0500 | 7,50** |
| Resíduo | 27 | 0,0070 | |
| | | | CV = 1,86% |

| Médias | |
|-----------|---------|
| Época III | - 4,428 |
| Época II | - 4,364 |
| Época I | - 4,288 |

** : Significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

Médias seguidas pela mesma barra não diferem, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 14. Análise da variância das variâncias dentro de plantas da frequência de quiasmas por microsporócito para as três épocas de plantio

| FV | GL | QM(10^{-3}) | F |
|-----------------------------|-----|-----------------|----------------------|
| Grupos | 5 | 0,6074 | 27,1161** |
| Épocas | 2 | 0,0210 | 0,9375 ^{ns} |
| Grupos x épocas | 10 | 0,0516 | 2,3035* |
| Tratamentos/grupos | | | |
| Tratamentos/grupo 1 | 2 | 0,0283 | 1,2589 ^{ns} |
| Tratamentos/grupo 2 | 2 | 0,0166 | 0,7410 ^{ns} |
| Tratamentos/grupo 3 | 2 | 0,0108 | 0,4821 ^{ns} |
| Tratamentos/grupo 4 | 2 | 0,0004 | 0,0178* |
| Tratamentos/grupo 5 | 2 | 0,1184 | 5,2857** |
| Tratamentos/grupo 6 | 2 | 0,1472 | 6,5714** |
| Épocas x tratamento/grupo | | | |
| Época x tratamentos/grupo 1 | 4 | 0,0238 | 1,0608 ^{ns} |
| Época x tratamentos/grupo 2 | 4 | 0,0082 | 0,3651 ^{ns} |
| Época x tratamentos/grupo 3 | 4 | 0,0136 | 0,6077 ^{ns} |
| Época x tratamentos/grupo 4 | 4 | 0,0347 | 1,5400 ^{ns} |
| Época x tratamentos/grupo 5 | 4 | 0,0603 | 2,6895* |
| Época x tratamentos/grupo 6 | 4 | 0,0233 | 1,0407 ^{ns} |
| Resíduo | 486 | | |
| | | | CV = 2,15% |

ns: Não significativo pelo teste F.

*: Significativo, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F.

** : Significativo, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F.

Tabela 15. Coeficiente de correlação (r) entre frequência de quiasmas intersticiais e frequência de quiasmas terminais em linhagens e testadores

| Linhagens Flint | | Linhagens Dentado e testadores | |
|-----------------|-----------|--------------------------------|-----------------------|
| LF-1065 | -0,5109** | LD-1187 | -0,3697** |
| LF-1282 | -0,6325** | LD-1195 | -0,5992** |
| LF-1313 | -0,6036** | LD-1234 | -0,4220** |
| LF-1320 | -0,4714** | LD-1267 | -0,5568** |
| LF-1326 | -0,4907** | LD-1737 | -0,3801** |
| LF-1336 | -0,5523** | LD-1741 | -0,0038 ^{ns} |
| LF-1344 | -0,5728** | LD-1782 | -0,5913** |
| LF-1345 | -0,5606** | LD-1794 | -0,6665** |
| LF-1408 | -0,3692** | LD-1808 | -0,4730** |
| LF-1419 | -0,6821** | LD-1823 | -0,4446** |
| LF-1055 | -0,0169* | LD-1581 | -0,5021** |
| LF-1064 | -0,6317** | LD-1609 | -0,5458** |
| LF-1086 | -0,4017** | LD-1622 | -0,5359** |
| LF-1092 | -0,4308** | LD-1657 | -0,4633** |
| LF-1244 | -0,5055** | LD-1715 | -0,6009** |
| LF-1276 | -0,5532** | | |
| LF-1278 | -0,6587** | SINT-FLINT-PB-GR | -0,4918** |
| LF-1284 | -0,3237** | SINT-DENT-PB-GR | -0,4648** |
| LF-1332 | -0,5600** | HS-FLINT-GNR | -0,6288** |
| LF-1334 | -0,3974** | HS-DENT-GNR | -0,4816** |
| LF-1350 | -0,5226** | | |
| LF-1371 | -0,4786** | | |
| LF-1383 | -0,6192** | | |
| LF-1389 | -0,4733** | | |
| LF-1406 | -0,5893** | | |

*: Significância de r (P < 0,05)

** : Significância de r (P < 0,01)

ns: Não significativo.

Tabela 16. Número de plantas e células com cromossomos univalentes nas linhagens e testadores

| Tratamento | Nº de plantas com univalentes | Nº de células com univalentes | Nº de células com 1 par de univalentes | Nº de células com 2 pares de univalentes | Nº de células com mais de 2 pares de univalentes |
|-------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--|--|--|
| Baixa CC | | | | | |
| LF-1065 | 4 | 8 | 8 | 0 | 0 |
| LF-1282 | 3 | 3 | 3 | 0 | 0 |
| LF-1313 | 10 | 47 | 39 | 8 | 0 |
| LF-1320 | 9 | 41 | 38 | 2 | 1 |
| LF-1326 | 8 | 27 | 22 | 5 | 0 |
| LF-1336 | 6 | 16 | 16 | 0 | 0 |
| LF-1344 | 3 | 5 | 5 | 0 | 0 |
| LF-1345 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| LF-1408 | 6 | 21 | 20 | 1 | 0 |
| LF-1419 | 2 | 7 | 7 | 0 | 0 |
| Alta CC | | | | | |
| LF-1055 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| LF-1064 | 4 | 8 | 8 | 0 | 0 |
| LF-1086 | 2 | 7 | 6 | 1 | 0 |
| LF-1092 | 7 | 54 | 47 | 7 | 0 |
| LF-1244 | 6 | 12 | 11 | 1 | 0 |
| LF-1276 | 3 | 5 | 5 | 0 | 0 |
| LF-1278 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| LF-1284 | 6 | 54 | 48 | 5 | 1 |
| LF-1322 | 1 | 1 | 1 | 4 | 0 |
| LF-1334 | 3 | 16 | 12 | 0 | 0 |
| LF-1350 | 5 | 7 | 7 | 0 | 0 |
| LF-1371 | 5 | 14 | 14 | 0 | 0 |
| LF-1383 | 2 | 2 | 2 | 0 | 0 |
| LF-1389 | 2 | 3 | 3 | 0 | 0 |
| LF-1406 | 5 | 9 | 9 | 0 | 0 |
| Baixa CC | | | | | |
| LD-1187 | 7 | 9 | 9 | 0 | 0 |
| LD-1195 | 2 | 3 | 3 | 0 | 0 |
| LD-1234 | 2 | 8 | 7 | 1 | 0 |
| LD-1267 | 2 | 3 | 3 | 0 | 0 |
| LD-1737 | 1 | 6 | 6 | 0 | 0 |
| LD-1741 | 8 | 46 | 39 | 5 | 0 |
| LD-1782 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| LD-1794 | 7 | 23 | 22 | 1 | 0 |
| LD-1808 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| LD-1823 | 7 | 9 | 9 | 0 | 0 |
| Alta CC | | | | | |
| LD-1581 | 2 | 3 | 3 | 0 | 0 |
| LD-1609 | 6 | 10 | 8 | 2 | 0 |
| LD-1622 | 5 | 5 | 5 | 0 | 0 |
| LD-1657 | 3 | 5 | 5 | 0 | 0 |
| LD-1715 | 1 | 1 | -1 | 0 | 0 |
| Testadores | | | | | |
| SIN-FLINT- β B-GR | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| SIN-DENT- β B-GR | 2 | 4 | 4 | 0 | 0 |
| HS-FLINT-GNR | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| HS-DENT-GNR | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tabela 17. Análise do comportamento meiótico dos cromossomos univalentes na linhagem LF-1320

| Fases | Anormalidades | % de célula/planta | | | | | | | | | | |
|------------|----------------------------------|--------------------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | |
| Diacinese | Células com univalentes | 40,00 | 25,00 | 20,00 | 20,00 | 10,00 | 20,00 | 20,00 | 20,00 | 25,00 | 25,00 | 0,00 |
| Metáfase I | Normal | 88,33 | 72,48 | 87,50 | 92,33 | 97,29 | 90,75 | 91,67 | 95,04 | 93,21 | 100,00 | |
| | Ascensão precoce | 8,56 | 13,76 | 9,93 | 5,11 | 1,23 | 7,93 | 6,94 | 2,48 | 5,99 | 0,00 | |
| | Ascensão precoce e não-disjunção | 3,11 | 13,76 | 2,57 | 2,56 | 1,48 | 1,32 | 1,39 | 2,48 | 0,80 | 0,00 | |
| Anáfase I | Normal | 88,46 | 74,36 | 88,90 | 77,66 | 78,85 | 77,78 | 51,16 | 76,80 | 80,00 | 100,00 | |
| | Ascensão precoce | 5,38 | 3,85 | 3,70 | 4,26 | 3,85 | 16,67 | 13,95 | 5,80 | 5,27 | 0,00 | |
| | Ascensão precoce e não-disjunção | 0,77 | 1,28 | 0,00 | 1,06 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1,45 | 2,10 | 0,00 | |
| | Ascensão tardia | 1,54 | 3,85 | 3,70 | 10,64 | 7,69 | 5,55 | 0,00 | 5,80 | 4,20 | 0,00 | |
| | Ascensão tardia e não-disjunção | 3,07 | 12,82 | 1,85 | 6,38 | 7,69 | 0,00 | 20,94 | 7,25 | 5,27 | 0,00 | |
| | Ascensão precoce e tardia | 0,77 | 3,85 | 1,85 | 0,00 | 1,92 | 0,00 | 13,95 | 2,90 | 3,16 | 0,00 | |
| Telófase I | Normal | 100,00 | 90,37 | 95,45 | 90,18 | 100,00 | 98,21 | 91,40 | 99,24 | 98,71 | 100,00 | |
| | Micronúcleos em um pólo | 0,00 | 4,28 | 4,55 | 5,36 | 0,00 | 1,79 | 3,22 | 0,38 | 1,29 | 0,00 | |
| | Micronúcleo nos dois pólos | 0,00 | 5,35 | 0,00 | 4,46 | 0,00 | 0,00 | 5,38 | 0,38 | 0,00 | 0,00 | |
| Tétrades | Sem micronúcleos | 100,00 | 99,06 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | |
| | Com micronúcleos | 0,00 | 0,94 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | |

Tabela 18. Análise do comportamento meiótico dos cromossomos univalentes na linhagem LF-1092

| Fases | Anormalidades | Z de células/planta | | | | | | | | | |
|------------|----------------------------------|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Diacinese | Células com univalentes | 35,00 | 35,00 | 30,00 | 50,00 | 0,00 | 40,00 | 0,00 | 40,00 | 40,00 | 0,00 |
| Metáfase I | Normal | 88,56 | 79,37 | 84,38 | 53,94 | 100,00 | 85,42 | 100,00 | 69,16 | 94,61 | 100,00 |
| | Ascensão precoce | 5,60 | 9,07 | 8,78 | 21,58 | 0,00 | 10,83 | 0,00 | 17,00 | 1,80 | 0,00 |
| | Ascensão precoce e não-disjunção | 5,84 | 11,54 | 6,84 | 24,48 | 0,00 | 3,75 | 0,00 | 13,84 | 3,59 | 0,00 |
| Anáfase I | Normal | 78,26 | 94,23 | 74,19 | 96,77 | 100,00 | 88,00 | 100,00 | 78,85 | 88,89 | 100,00 |
| | Ascensão precoce | 4,35 | 1,92 | 3,23 | 0,00 | 0,00 | 2,00 | 0,00 | 0,00 | 5,55 | 0,00 |
| | Ascensão precoce e não-disjunção | 6,52 | 0,00 | 6,45 | 0,00 | 0,00 | 4,00 | 0,00 | 7,69 | 0,00 | 0,00 |
| | Ascensão tardia | 4,35 | 1,92 | 3,23 | 3,23 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 5,77 | 2,78 | 0,00 |
| | Ascensão tardia e não-disjunção | 0,00 | 1,92 | 6,45 | 0,00 | 0,00 | 4,00 | 0,00 | 1,92 | 2,78 | 0,00 |
| | Ascensão precoce e tardia | 6,52 | 0,00 | 6,45 | 0,00 | 0,00 | 2,00 | 0,00 | 5,77 | 0,00 | 0,00 |
| Telófase I | Normal | 98,12 | 97,03 | 96,39 | 92,86 | 100,00 | 96,30 | 100,00 | 92,10 | 96,25 | 100,00 |
| | Micronúcleo em um pólo | 1,13 | 0,99 | 3,61 | 5,95 | 0,00 | 3,17 | 0,00 | 5,26 | 3,75 | 0,00 |
| | Micronúcleo nos dois pólos | 0,75 | 1,98 | 0,00 | 1,19 | 0,00 | 0,53 | 0,00 | 2,64 | 0,00 | 0,00 |
| Tétrades | Sem micronúcleos | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 |
| | Com micronúcleos | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |

Tabela 19. Análise do comportamento meiótico dos cromossomos univalentes na linhagem LF-1284

| Fases | Anormalidades | % de células/planta | | | | | | | | | |
|------------|----------------------------------|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Diacinese | Células com univalentes | 55,00 | 55,00 | 0,00 | 15,00 | 20,00 | 0,00 | 70,00 | 0,00 | 55,00 | 0,00 |
| Metáfase I | Normal | 52,30 | 46,20 | 100,00 | 94,60 | 86,09 | 100,00 | 68,60 | 100,00 | 52,80 | 100,00 |
| | Ascensão precoce | 10,65 | 20,88 | 0,00 | 1,00 | 6,08 | 0,00 | 4,20 | 0,00 | 18,45 | 0,00 |
| | Ascensão precoce e não-disjunção | 37,05 | 32,92 | 0,00 | 4,40 | 7,83 | 0,00 | 27,20 | 0,00 | 28,75 | 0,00 |
| Anáfase I | Normal | 77,78 | 76,20 | 100,00 | 73,70 | 46,15 | 100,00 | 52,45 | 100,00 | 59,30 | 100,00 |
| | Ascensão precoce | 0,85 | 7,14 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 9,45 | 0,00 | 11,00 | 0,00 |
| | Ascensão precoce e não-disjunção | 5,13 | 9,52 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 19,00 | 0,00 | 12,05 | 0,00 |
| | Ascensão tardia | 7,69 | 2,38 | 0,00 | 14,00 | 46,15 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 3,35 | 0,00 |
| | Ascensão tardia e não-disjunção | 2,56 | 2,38 | 0,00 | 7,00 | 0,00 | 0,00 | 11,90 | 0,00 | 4,40 | 0,00 |
| | Ascensão precoce e tardia | 5,99 | 2,38 | 0,00 | 5,30 | 7,60 | 0,00 | 7,20 | 0,00 | 9,90 | 0,00 |
| Telófase | Normal | 92,16 | 95,96 | 100,00 | 77,00 | 97,42 | 100,00 | 82,90 | 100,00 | 75,65 | 0,00 |
| | Micronúcleo em um pólo | 6,72 | 1,78 | 0,00 | 2,10 | 2,06 | 0,00 | 10,45 | 0,00 | 18,55 | 0,00 |
| | Micronúcleo nos dois pólos | 1,12 | 2,36 | 0,00 | 0,90 | 0,52 | 0,00 | 6,55 | 0,00 | 5,80 | 0,00 |
| Tétrades | Sem micronúcleos | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 |
| | Com micronúcleos | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |

Tabela 20. Análise do comportamento meiótico dos cromossomos univalentes na linhagem LD-1741

| Fases | Anormalidades | % de células/planta | | | | | | | | | |
|------------|----------------------------------|---------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Diacinese | Células com univalentes | 45,00 | 25,00 | 0,00 | 40,00 | 15,00 | 35,00 | 0,00 | 35,00 | 25,00 | 35,00 |
| Metáfase I | Normal | 78,52 | 84,64 | 100,00 | 89,13 | 91,83 | 80,50 | 100,00 | 78,15 | 83,63 | 86,00 |
| | Ascensão precoce | 8,15 | 5,40 | 0,00 | 2,17 | 3,61 | 8,30 | 0,00 | 8,82 | 6,37 | 3,75 |
| | Ascensão precoce e não-disjunção | 13,31 | 8,96 | 0,00 | 8,70 | 4,56 | 11,20 | 0,00 | 13,02 | 10,00 | 10,25 |
| Anáfase I | Normal | 59,38 | 64,13 | 100,00 | 82,05 | 94,52 | 64,91 | 100,00 | 80,35 | 71,01 | 75,30 |
| | Ascensão precoce | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 5,13 | 0,00 | 1,75 | 0,00 | 0,00 | 1,45 | 3,92 |
| | Ascensão precoce e não-disjunção | 9,37 | 1,09 | 0,00 | 5,13 | 0,00 | 1,75 | 0,00 | 2,27 | 1,45 | 1,96 |
| | Ascensão tardia | 6,25 | 9,78 | 0,00 | 0,00 | 2,74 | 12,28 | 0,00 | 1,14 | 1,45 | 9,80 |
| | Ascensão tardia e não-disjunção | 18,75 | 23,91 | 0,00 | 2,56 | 0,00 | 12,28 | 0,00 | 12,14 | 21,74 | 5,09 |
| | Ascensão precoce e tardia | 6,25 | 1,09 | 0,00 | 5,13 | 2,74 | 7,03 | 0,00 | 4,10 | 2,90 | 3,93 |
| Telófase I | Normal | 94,81 | 95,69 | 100,00 | 98,63 | 100,00 | 97,73 | 100,00 | 100,00 | 99,33 | 98,60 |
| | Micronúcleo em um pólo | 4,52 | 4,08 | 0,00 | 0,92 | 0,00 | 0,76 | 0,00 | 0,00 | 0,67 | 1,40 |
| | Micronúcleo nos dois pólos | 0,65 | 0,23 | 0,00 | 0,45 | 0,00 | 1,51 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Tétrades | Sem micronúcleos | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 |
| | Com micronúcleos | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |

Tabela 21. Número de células com e sem cromossomos univalentes nas linhagens Flint com alta e baixa capacidade de combinação e teste de χ^2 de independência.

| Linhagens | Número de células com univalentes | Número de células sem univalentes | Número total de células |
|----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| Flint Baixa CC | 176 (147,20) | 1824 (1852,80) | 2000 |
| Flint Alta CC | 192 (220,80) | 2808 (2779,20) | 3000 |
| | 368 | 4632 | 5000 |

$$\chi^2 = 10,03^{**} (P < 0,01)$$

Tabela 22. Número de células com e sem cromossomos univalentes nas linhagens Dentado com alta e baixa capacidade de combinação e teste de χ^2 de independência

| Linhagens | Número de células com univalentes | Número de células sem univalentes | Número total de células |
|------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| Dentado Baixa CC | 108 (88,00) | 1892 (1912,00) | 2000 |
| Dentado Alta CC | 24 (44,00) | 976 (956,00) | 1000 |
| | 132 | 2868 | 3000 |

$$\chi^2 = 14,26^{***} (P < 0,001)$$

Tabela 23. Tipo e percentagem de anormalidades observadas em microsporó-
citos de uma planta da linhagem LD-1741

| Fase | Anormalidades | Percentagem de células |
|------------|-------------------------|---------------------------|
| Anáfase I | Normais | 22,53 |
| | 1 ponte + 1 fragmento | 61,97 |
| | 2 pontes + 2 fragmentos | 9,86 |
| | 1 fragmento | 4,00 |
| Anáfase II | Normais | 60,34 |
| | ponte em 1 célula | 20,68 |
| | ponte em 2 células | 0,00 |
| | 1 fragmento em 1 célula | 18,98 |

Tabela 24. Percentagem de plantas com meiose assincronica entre as linhagens e os testadores

| Flint baixa CC | Flint alta CC | Dentado baixa CC | Dentado alta CC | Testadores |
|----------------|---------------|------------------|-----------------|----------------------|
| LF-1065 0,00 | LF-1055 0,00 | LD-1187 0,00 | LD-1581 0,00 | SIN-FLINT-PB-GR 0,00 |
| LF-1282 0,00 | LF-1064 0,00 | LD-1105 0,00 | LD-1609 0,00 | SIN-DENT-PB-GR 0,00 |
| LF-1313 10,00 | LF-1086 0,00 | LD-1324 0,00 | LD-1622 0,00 | HS-FLINT-GNR 0,00 |
| LF-1320 0,00 | LF-1092 0,00 | LD-1267 20,00 | LD-1657 0,00 | HS-DENT-GNR 0,00 |
| LF-1326 10,00 | LF-1244 0,00 | LD-1737 0,00 | LD-1715 0,00 | |
| LF-1336 10,00 | LF-1276 0,00 | LD-1741 0,00 | | |
| LF-1344 0,00 | LF-1278 0,00 | LD-1782 0,00 | | |
| LF-1345 0,00 | LF-1284 0,00 | LD-1794 0,00 | | |
| LF-1408 0,00 | LF-1332 20,00 | LD-1808 0,00 | | |
| LF-1419 10,00 | LF-1334 0,00 | LD-1823 0,00 | | |
| | LF-1350 0,00 | | | |
| | LF-1371 0,00 | | | |
| | LF-1383 0,00 | | | |
| | LF-1389 0,00 | | | |
| | LF-1406 0,00 | | | |

Tabela 25. Número de cromossomos B observado nas linhagens LF-1350 e LD-1715, frequência de qui-
 mas, quiemas por macrosporócito e frequência de quiemas intersticiais.

| Tratamento | Planta | | | | | | | | | |
|---|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| LF-1350 | | | | | | | | | | |
| Nº de cromosso- mos B | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5 |
| Frequência de quiemas | 19,23 | 20,03 | 17,47 | 18,30 | 18,39 | 18,78 | 19,67 | 20,17 | 18,82 | 19,93 |
| Frequência de quiemas intersticiais | 1,60 | 3,60 | 2,10 | 3,00 | 1,25 | 2,65 | 3,75 | 4,20 | 2,65 | 2,35 |
| LD-1715 | | | | | | | | | | |
| Nº de cromosso- mos B | 0 | 3 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 8 |
| Frequência de quiemas | 19,59 | 18,78 | 18,40 | 20,91 | 19,64 | 18,94 | 19,72 | 19,22 | 18,84 | 18,98 |
| Frequência de quiemas intersticiais | 4,90 | 1,60 | 3,50 | 6,70 | 3,90 | 3,70 | 4,70 | 3,60 | 3,55 | 1,75 |

Tabela 26. Frequência média de quiasmas por microsporócito, frequência média de quiasmas intersticiais, percentagem de quiasmas intersticiais em relação aos quiasmas totais, número de células e número de plantas com cromossomos univalentes, anormalidades meióticas, assincronia na meiose e presença de cromossomos B nas linhagens.

| Tratamento | Frequência de quiasmas | Frequência de quiasmas intersticiais | % de quiasmas intersticiais | Nº de células com univalentes | Nº de plantas com univalentes | Anormalidades meióticas | Assincronia na meiose(%) | Presença de cromossomos B | |
|------------|------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|-----|
| Baixa CC | LF-1065 | 18,05 | 2,85 | 15,77 | 8 | 4 | não | 0,00 | não |
| | LF-1282 | 18,01 | 2,43 | 13,52 | 3 | 3 | não | 0,00 | não |
| | LF-1313 | 16,68 | 3,51 | 21,00 | 47 | 10 | não | 10,00 | não |
| | LF-1320 | 16,75 | 2,52 | 15,02 | 41 | 9 | sim | 0,00 | não |
| | LF-1326 | 16,90 | 1,61 | 9,41 | 27 | 8 | não | 10,00 | não |
| | LF-1336 | 18,26 | 2,24 | 12,32 | 16 | 6 | não | 10,00 | não |
| | LF-1344 | 19,09 | 3,96 | 20,71 | 5 | 3 | não | 0,00 | não |
| | LF-1345 | 19,89 | 3,82 | 19,31 | 1 | 1 | não | 0,00 | não |
| | LF-1408 | 18,15 | 3,10 | 17,08 | 21 | 6 | não | 0,00 | não |
| | LF-1419 | 18,25 | 3,66 | 19,99 | 7 | 3 | não | 10,00 | não |
| Alta CC | LF-1055 | 18,34 | 2,41 | 13,14 | 0 | 0 | não | 0,00 | não |
| | LF-1064 | 18,48 | 2,40 | 12,96 | 8 | 4 | não | 0,00 | não |
| | LF-1086 | 18,63 | 2,52 | 13,52 | 7 | 2 | não | 0,00 | não |
| | LF-1092 | 16,12 | 2,68 | 16,62 | 54 | 7 | não | 0,00 | não |
| | LF-1244 | 17,46 | 2,39 | 13,69 | 12 | 6 | não | 0,00 | não |
| | LF-1276 | 18,82 | 2,24 | 11,90 | 5 | 3 | não | 0,00 | não |
| | LF-1278 | 19,07 | 3,05 | 15,99 | 0 | 0 | não | 0,00 | não |
| | LF-1284 | 16,82 | 2,21 | 13,05 | 54 | 7 | não | 0,00 | não |
| | LF-1332 | 19,33 | 3,09 | 15,98 | 1 | 1 | não | 20,00 | não |
| | LF-1334 | 17,97 | 2,56 | 14,29 | 16 | 3 | não | 0,00 | não |
| | LF-1350 | 19,09 | 2,70 | 14,16 | 7 | 5 | não | 0,00 | sim |
| | LF-1371 | 17,97 | 3,26 | 18,11 | 14 | 5 | não | 0,00 | não |
| LF-1383 | 18,37 | 3,32 | 18,07 | 2 | 2 | não | 0,00 | não | |
| LF-1389 | 18,85 | 2,19 | 11,52 | 3 | 3 | não | 0,00 | não | |
| LF-1406 | 18,74 | 3,30 | 17,59 | 9 | 5 | não | 0,00 | não | |
| Baixa CC | LD-1187 | 18,23 | 2,35 | 12,87 | 9 | 7 | não | 0,00 | não |
| | LD-1195 | 18,13 | 2,23 | 12,30 | 3 | 2 | não | 0,00 | não |
| | LD-1234 | 18,82 | 2,44 | 13,54 | 8 | 2 | não | 0,00 | não |
| | LD-1267 | 18,78 | 3,96 | 21,10 | 3 | 2 | não | 20,00 | não |
| | LD-1737 | 18,49 | 3,53 | 19,09 | 6 | 1 | não | 0,00 | não |
| | LD-1741 | 16,78 | 3,10 | 18,47 | 46 | 6 | sim | 0,00 | não |
| | LD-1782 | 19,05 | 3,56 | 18,68 | 1 | 1 | não | 0,00 | não |
| | LD-1794 | 16,79 | 3,28 | 19,53 | 23 | 7 | não | 0,00 | não |
| | LD-1808 | 19,70 | 3,79 | 19,23 | 0 | 0 | não | 0,00 | não |
| LD-1823 | 19,15 | 2,85 | 14,88 | 9 | 7 | sim | 0,00 | não | |
| Alta CC | LD-1581 | 19,47 | 2,58 | 13,25 | 3 | 2 | não | 0,00 | não |
| | LD-1609 | 18,10 | 3,43 | 18,95 | 10 | 6 | não | 0,00 | não |
| | LD-1622 | 17,96 | 2,76 | 15,37 | 5 | 5 | não | 0,00 | não |
| | LD-1657 | 19,23 | 3,72 | 19,34 | 5 | 3 | não | 0,00 | não |
| | LD-1715 | 19,33 | 3,79 | 19,61 | 1 | 1 | não | 0,00 | sim |