

MARIA FERNANDA PIFFER TOMASI BALDEZ DA SILVA

**EFEITOS DA ENDOGAMIA SOBRE A MICROSPOROGÊNESE EM
MILHO-PIPOCA (*Zea mays* L.)**

Maringá - Paraná - Brasil

Fevereiro, 2006

MARIA FERNANDA PIFFER TOMASI BALDEZ DA SILVA

EFEITOS DA ENDOGAMIA SOBRE A MICROSPOROGÊNESE EM
MILHO-PIPOCA (*Zea mays* L.

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de Mestre.

Maringá - Paraná - Brasil

Fevereiro, 2006

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

S586e Silva, Maria Fernanda Piffer Tomasi Baldez da
Efeitos da endogamia sobre a microsporogênese em
milho-pipoca (*Zea mays* L.) / Maria Fernanda Piffer
Tomasi Baldez da Silva. -- Maringá : [s.n.], 2006.
46 f. : il.

Orientador : Prof^a. Dr^a. Maria Suely Pagliarini.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Maringá. Programa de Pós-graduação em Genética e
Melhoramento, 2006.

1. Milho-pipoca - Análise meiótica. 2. Milho-
pipoca - Endogamia. I. Universidade Estadual de
Maringá. Programa de Pós-graduação em Genética e
Melhoramento. II. Título.

CDD 21.ed. 635.6772334

Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte
(A autora)

DEDICATÓRIA

Dedico a Deus, pelas bênçãos e confiança a mim depositadas ao longo de todos esses anos,

À minha família, minha mãe Ilce Maria, meu pai Joaquim e ao meu irmão José Eduardo, os quais amo muito e os quais sempre me apoiaram e toleraram dias bons e ruins,

Aos meus amigos, pelo carinho e alegria, Cleverson Busso, Guto Lazarini, Eraldo Lopes, que se tornaram indispensáveis,

A Marcus Eduardo Kamide Gonçalves, que se tornou muito importante na minha vida, sempre acreditando em meu potencial e colaborando para minha formação profissional e pessoal.

AGRADECIMENTOS

À Professora Maria Suely Pagliarini, por esses dois anos de paciência e convívio, sempre me orientando com confiança e amizade,

Ao Dr. Carlos Alberto Scapim, pela concessão do material analisado, plantio e acompanhamento do material em campo, pela co-orientação e análise estatística dos dados,

Aos meus colegas de laboratório, Andréa, Claudicéia, Kellen, Eleniza, Eraldo e Veridiana, pelo incentivo constante nas atividades deste trabalho,

À técnica do Laboratório de Citogenética Vegetal, Neide da Silva, pela dedicação, amizade e pela preparação dos materiais utilizados em meus experimentos,

Ao secretário do Programa de Pós-Graduação Genética e Melhoramento, Francisco José da Cruz, pela amizade e competência na aquisição de materiais e fornecimento de informações,

Ao PRONEX/Fundação Araucária, pela concessão dos recursos financeiros destinados ao desenvolvimento da pesquisa,

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos durante o curso,

À Universidade Estadual de Maringá, pela oportunidade de realização do Mestrado.

BIOGRAFIA

Maria Fernanda Piffer Tomasi Baldez da Silva, filha de Joaquim Baldez da Silva e Ilce Maria Piffer Tomasi Baldez da Silva, nascida em vinte e três de novembro de mil novecentos e oitenta e um, na cidade de Londrina, Paraná.

Ingressou em 2000 no Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, diplomando-se em 2004.

Em março de 2004, matriculou-se no Curso de Mestrado em Genética e Melhoramento da Universidade Estadual de Maringá.

SUMÁRIO

Resumo.....	viii
Abstract.....	ix
1. Introdução.....	1
2. Revisão da literatura.....	3
2.1. Caracterização e produção de milho-pipoca	3
2.2. Depressão por endogamia	5
2.3. Controle genético da meiose.....	7
2.4. Controle genético da frequência e localização de quiasmas.....	9
2.5. Correlação entre frequência de quiasmas e cromossomos univalentes	10
3. Material e métodos	12
3.1. Materiais	12
3.2. Preparação citológica de microsporócitos	13
3.3. Coleta de dados	13
4. Resultados e discussão	15
4.1. Frequência de quiasmas	15
4.2. Ocorrência de cromossomos univalentes.....	19
4.3. Ocorrência de anormalidades meióticas	21
5. Conclusões.....	30

6.	Referências bibliográficas	31
7.	Apêndices	44

RESUMO

SILVA, Maria Fernanda Piffer Tomasi Baldez da. M. Sc. Universidade Estadual de Maringá, fevereiro de 2006. Efeitos da endogamia sobre a microsporogênese em milho-pipoca (*Zea mays* L.) Professora orientadora: Maria Suely Pagliarini. Professores conselheiros: Carlos Alberto Scapim e Ronald José Barth Pinto.

O milho-pipoca vem ganhando importância na área agrônoma, sendo, portanto, objeto de melhoramento genético. Para a formação de híbridos de milho-pipoca é necessária a obtenção de linhagens endogâmicas. A endogamia coloca em homozigose genes para várias características e, dentre elas, aquelas relacionadas ao processo meiótico, causando inúmeras anormalidades que podem afetar a viabilidade dos gametas. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi fornecer informações sobre a estabilidade meiótica de linhagens endogâmicas de milho-pipoca originadas a partir de um híbrido triplo a fim de subsidiar um programa de produção de híbridos altamente produtivos. Foram analisadas a população-base (S_0) e sete gerações de autofecundação (S_1 a S_7) obtidas anualmente. Para cada genótipo (S_0 a S_7), foram analisadas nove plantas por meio da metodologia convencional para estudos meióticos. Os resultados foram comparados estatisticamente através de regressão polinomial. Análises da frequência de quiasmas total e terminal revelaram queda progressiva destas ao longo das sucessivas gerações endogâmicas, enquanto a frequência de quiasmas intersticiais não foi afetada. O número de células com anormalidades meióticas também cresceu com a endogamia, todavia não foi elevado. Considerando que a frequência de anormalidades foi baixa e não afetou drasticamente o produto final da meiose, as linhagens extraídas do híbrido em estudo podem constituir-se em linhagens com potencial para a produção de novos híbridos de milho-pipoca adaptados ao Estado do Paraná.

ABSTRACT

SILVA, Maria Fernanda Piffer Tomasi Baldez da. M. Sc. State University of Maringá. Effects of endogamy on the microsporogenesis of popcorn (*Zea mays* L.). Adviser: Maria Suely Pagliarini. Co-advisers: Carlos Alberto Scapim and Ronald José Barth Pinto

The greatly appreciated popular popcorn has recently acquired great importance in the agronomic field and has been subjected to genetic improvement. Inbred lines are necessary for the formation of popcorn hybrids. Endogamy places genes for several characteristics in homozygosis, among which those related to the meiotic process. It may also cause several abnormalities that may affect the gametes' viability. Current research aims at giving information on the meiotic stability of inbred lines of popcorn produced from a triple hybrid. It will be a contribution in the program on the production of highly productive hybrids. Original population (S_0) and seven yearly self-fecundation generations (S_1 to S_7) were analyzed. Nine plants were analyzed for each genotype (S_0 to S_7) by the conventional meiotic studies methodology. Results were statistically compared by linear regression. The frequency of total and terminal chiasmata showed a progressive fall throughout endogamy whereas the frequency of interstitial chiasmata was not affected ($p>0.05$). Due to endogamy cells with meiotic abnormalities increased although their number was not very high. Since frequency of abnormalities was low and did not affect drastically the meiosis's final result, inbred lines from the hybrid under analysis may present a high potential for the production of new popcorn hybrids which should be adapted to the state of Paraná, Brazil.

1. INTRODUÇÃO

O milho-pipoca vem sendo utilizado há muito tempo pelos indígenas como fonte de alimento. Esse tipo de milho desperta hoje a atenção dos melhoristas, que visam ao desenvolvimento de variedades e híbridos de linhagens que atendam à demanda e às exigências em qualidade por parte do mercado consumidor (Zinsly e Machado, 1987). O número reduzido de cultivares de milho-pipoca é limitante para a expansão da sua cultura no Brasil. As empresas empacotadoras desse produto não trabalham com variedades nacionais devido à pouca oferta no mercado decorrente da falta de sementes (Scapim *et al.*, 2002).

Um programa de melhoramento de milho pode ter como objetivo a obtenção de variedades ou de híbridos de linhagens. Para a obtenção de híbridos, é importante a avaliação da população-base como fonte de linhagens endogâmicas, bem como das próprias linhagens. Essa avaliação pode ser feita por intermédio da variabilidade entre as linhagens e pela depressão por endogamia. A depressão por endogamia representa o decréscimo do comportamento da população quando nas condições de maior grau de homozigose (Kassout e Miranda Filho, 1986). Assim, o valor de uma linhagem no processo comercial de obtenção do híbrido depende das características da própria linhagem e do seu comportamento em combinações híbridas (Ferrão *et al.*, 1986).

As sucessivas autofecundações podem produzir depressão por endogamia para diferentes caracteres. Entre os efeitos decorrentes da endogamia estão a redução de vigor e produtividade das plantas, ocasionando a fixação de alguns

caracteres, a diminuição da variabilidade dentro das linhagens e, conseqüentemente, o aumento da diferença entre as linhagens (Hallauer e Miranda Filho, 1981). Esses efeitos são interpretados com base na genética mendeliana. A depressão por endogamia tem sido observada em várias raças de milho e também tem sido muito estudada (Hallauer e Miranda Filho, 1981). Muitos trabalhos demonstram que a depressão por endogamia acarreta efeitos tão drásticos que impede a utilização de certas linhagens em programas de melhoramento.

Dentre outras características, a endogamia coloca em homozigose os genes que controlam os diferentes passos do processo meiótico. Assim, a taxa de anormalidades meióticas aumenta consideravelmente em linhagens endogâmicas. Diferentes tipos de anormalidades meióticas decorrentes de endogamia têm sido descritas em milho (Villamizar, 1976; Pagliarini, 1980, 1983; Pagliarini *et al.*; 1986a,b; Pagliarini, 1989; Defani-Scoarize *et al.*, 1995, 1996; Caetano-Pereira e Pagliarini, 1996, 1997, Caetano-Pereira *et al.*, 1998, 1999). Essas anormalidades, de um modo geral, comprometeram o produto final da meiose e a fertilidade dos grãos de pólen, afetando a produtividade das plantas. Correlação negativa entre anormalidades meióticas e capacidade de combinação têm sido demonstradas em milho por Pagliarini (1989) e Pagliarini *et al.* (1986b).

A literatura não registra nenhum estudo relacionando anormalidades meióticas e produtividade em milho-pipoca. Neste sentido, o objetivo do presente trabalho é fornecer informações acerca da estabilidade meiótica de linhagens endogâmicas de milho-pipoca, subsidiando um programa de produção de híbridos altamente produtivos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Caracterização e produção do milho-pipoca

O milho-pipoca caracteriza-se por apresentar sementes duras e pequenas as quais, sob a ação do calor, tem o amido expandido o que aumenta gradualmente a pressão interna do grão até que ocorra a explosão (Silva, 1993).

As variedades de milho-pipoca caracterizam-se geralmente por apresentar plantas delicadas em relação ao milho comum. São plantas menores, de colmo mais fino, e apresentam menor número de folhas; são prolíficas; apresentando maior susceptibilidade a pragas e doenças (Ziegler e Ashman, 1994).

Comparações de variedades brasileiras com as norte-americanas mostraram que a qualidade da pipoca brasileira era muito inferior. No primeiro Ensaio Nacional de Milho Pipoca, desenvolvido no ano agrícola 1991/92, a capacidade de expansão (CE) média foi de 17,5 mL.mL⁻¹ e a média da melhor cultivar foi de 20,8 mL.mL⁻¹. Na década de 40 do século XX, a CE de híbridos e variedades comerciais nos Estados Unidos já variava de 23,2 a 32,7 mL.g⁻¹ (Simon *et al.*, 2004).

Mediante o melhoramento e o desenvolvimento de uma tecnologia de produção específica para o milho-pipoca, conseguiu-se um aumento significativo na qualidade da pipoca nos Estados Unidos. Esse fato contribuiu para a ampla aceitação dos híbridos americanos no mercado nacional. O domínio da produção de milho-pipoca por grandes empresas detentoras dos cultivares e que apenas

comercializam os grãos limita o acesso dos produtores a estes, bem como o da tecnologia de produção, o que contribuiu para a aceitação dos híbridos americanos no mercado nacional, tornando o país um importador de grãos de milho-pipoca (Sawazaki, 2001).

O uso de híbridos americanos ou gerações avançadas é de alto risco e necessita de orientação de técnicos experientes com a cultura. Em geral, a planta do milho-pipoca é mais suscetível a doenças e pragas, acamamento e quebramento do colmo e podridões de espigas e de grãos, necessitando, ainda, de um cuidado especial na colheita e secagem dos grãos para evitar danos no pericarpo e endosperma (Sawazaki, 2001).

O mercado nacional de milho-pipoca tem passado por várias mudanças nos últimos cinco anos, principalmente no que diz respeito ao sistema de parceria entre produtores e empacotadoras e a importação do produto. Até o início do ano agrícola 2003/04, o consumo nacional de milho-pipoca estava em torno de 80 mil toneladas, sendo que 75% desse mercado correspondia ao milho-pipoca americano, importado principalmente da Argentina. Essa dependência estava baseada na baixa qualidade da pipoca disponível no mercado brasileiro devido à limitação de cultivares de alta qualidade e à tecnologia de produção inadequada (Galvão *et al.*, 2000).

Na safra 2004/05, houve uma inversão no panorama nacional, com a entrada do híbrido simples modificado IAC-112 e a importação brasileira foi de 20 mil toneladas, diminuindo a dependência das sementes importadas (Scapim *et al.*, 2006).

Nos programas de melhoramento visando à obtenção de linhagens, uma das alternativas é a utilização de híbridos comerciais como fonte de novas

linhagens, denominadas linhagens de segundo ciclo, sendo essa prática comum entre os melhoristas (Hallauer, 1990; Lamkey *et al.*, 1995). A utilização de híbridos é mais produtiva, gerando cultivares com qualidade melhor da pipoca, além de serem mais uniformes e de melhor qualidade que as variedades.

2.2. Depressão por endogamia

Mettler e Gregg (1973) relataram que a autofecundação é a forma mais intensa de endogamia. A endogamia não é um processo de degeneração, mas conseqüência da segregação mendeliana (Allard, 1971). Os efeitos prejudiciais não são produzidos pelo próprio processo da endogamia, mas são conseqüências diretas do número e tipos de caracteres mendelianos encontrados em heterozigose na população original. Falconer (1976) acrescenta que a depressão por endogamia é a redução do valor médio fenotípico mostrado por caracteres associados à capacidade reprodutiva ou à eficiência fisiológica da planta. A depressão por endogamia não ocorre de maneira similar entre os organismos. Em milho, por exemplo, o resultado de algumas autofecundações é desastroso e podem conduzir à extinção da variedade (Paterniani, 1978).

A conseqüência genética preliminar da endogamia é o aumento da homozigose. Frankham *et al.* (2002) formularam duas hipóteses para explicar a base genética da endogamia: a hipótese da *sobredominância* e a hipótese da *dominância parcial*. Na hipótese da *sobredominância*, a depressão por endogamia é atribuída a uma aptidão mais elevada dos heterozigotos contra homozigotos para os *loci* em questão. Para a hipótese de *dominância parcial*, as conseqüências negativas da aptidão para linhas autofecundadas são devidas à

fixação dos alelos recessivos deletérios ou parcialmente recessivos. A maioria dos pesquisadores posiciona-se a favor da última hipótese, em que a depressão por endogamia é atribuída a muitos genes de efeito pequeno.

Hallauer e Miranda Filho (1981) pontuam que embora um número imenso de autofecundações tenha sido realizado em milho, estimativas de depressão por endogamia para diferentes caracteres são surpreendentemente poucas. Desde os primeiros estudos realizados em milho, que datam do início do século XIV, os efeitos da endogamia são óbvios: 1) o vigor e a produtividade são reduzidos e alguns dos caracteres tornam-se fixados; 2) as diferenças entre as linhagens aumentam, enquanto a variabilidade dentro das linhagens decresce. Estes autores apresentam uma boa revisão sobre os efeitos da endogamia para muitos caracteres em milho.

Outros autores também apontaram as estimativas da depressão por endogamia para várias características empregando diferentes populações em milho com endosperma comum (Good e Hallauer, 1977; Viana *et al.*, 1982; Lima *et al.*, 1984; Nass e Miranda Filho, 1995; Vasal *et al.*, 1995). No entanto, em milho-pipoca apenas poucos estudos mostraram estimativas de depressão por endogamia (Hallauer e Miranda Filho, 1981).

Um dos objetivos do programa de melhoramento genético de milho-pipoca para a obtenção de linhagens homozigóticas é a autofecundação artificial, tendo como consequência principal a depressão por endogamia. Simon *et al.* (2004) afirmam que o valor de uma população como fonte de linhagens é dependente da depressão por endogamia em relação às várias características, principalmente rendimento de grãos, o que limita a obtenção de boas linhagens para a posterior obtenção de híbridos vigorosos.

2.3. Controle genético da meiose

A meiose é um evento evolutivo caracterizado por uma série de fenômenos mecânicos e bioquímicos complexos que culminam na redução do número de cromossomos. Isto promove um ajuste do número diplóide de cromossomos de geração em geração (Golubovskaya, 1979). A reprodução e meiose, por sua vez, são eventos complementares que ocorrem no ciclo de vida dos organismos eucariotos (Anderson e Stack, 2002).

A microsporogênese e a megasporogênese compreendem três estágios seqüenciais (pré-meiose, meiose e pós-meiose) que ocasionam a formação do gameta. Os erros nesse processo podem levar ao aparecimento de anormalidades no produto meiótico final (Kaul, 1988). Todas as etapas desses três estágios são geneticamente controladas. Esse controle é geralmente efetuado por um único gene (herança monogênica recessiva), o que facilita a homozigose durante o processo de endogamia. O conhecimento do controle genético da meiose talvez seja a chave para entender o complexo e importante processo envolvido na reprodução sexuada (Golubovskaya, 1979).

As plantas têm contribuído muito para o entendimento sobre os mecanismos da meiose, pois esse processo pode ser facilmente observado nas anteras em que há um grande número de células em diferentes fases da meiose (PMCs), facilitando a identificação de uma série de mutantes meióticos. As mutações meióticas acarretam desorganização ou interrupção dos eventos seqüenciais da meiose normal, resultando em desbalanceamento do número de cromossomos nos micrósporos e megásporos, ocasionando redução de fertilidade.

Para que a meiose ocorra de maneira eficiente, é preciso que os cromossomos homólogos tenham perfeito pareamento ou sinapse (Hasenkampf, 1984). Todo esse processo está sob controle genético e é indispensável para a produção de gametas balanceados, em termos de número cromossômico. O pareamento dos cromossomos homólogos ou sinapse foi verificado pela primeira vez formando uma estrutura conhecida como bivalente. O início do pareamento tem lugar em vários "pontos de contato" ao longo do cromossomo e prossegue até todos os segmentos homólogos estarem em equilíbrio de pareamento (Maguire, 1997). Em geral, o pareamento dos cromossomos homólogos é notadamente preciso e altamente específico, fazendo-se gene a gene (Schulz-Schaeffer, 1980). O pareamento cromossômico é mantido através de uma estrutura protéica conhecida como complexo sinaptonêmico. Uma vez pareados, os cromossomos homólogos trocam partes entre si em um processo conhecido como permuta genética ou *crossing-over*. Em seguida, ocorre a degradação do complexo sinaptonêmico e os locais em que houve permuta genética tornam-se visíveis por meio dos quiasmas. Assim, os quiasmas, em geral, são considerados como expressões citológicas da permuta genética (Stebbins, 1971).

O primeiro mutante meiótico foi descrito em milho por Beadle e McClintock, (1928). Eles assinalaram que a maioria das células em metáfase I apresentava 20 univalentes e raramente 10 bivalentes. As plantas mutantes demonstravam aborto de pólen e óvulo variável. Mutantes meióticos, dentre eles os mutantes sinápticos, são muito comuns no reino vegetal e estão distribuídos em um grande número de espécies cultivadas, abrangendo uma ampla variedade de famílias. Na literatura, existem muitas descrições de mutantes sinápticos, alguns deles causando macho-esterilidade, enquanto que mutantes pré-meióticos e para disjunção são

relativamente raros. Desde então, a ocorrência de tais mutações tem sido registrada em um grande número de espécies. De acordo com Singh (1993), a família Poaceae é a que possui maior número de espécies com mutantes sinápticos descritos. As correlações entre sinapse e formação de quiasmas foram observadas em mutantes meióticos de muitas espécies (Zickler *et al.*, 1992; Herickhoff *et al.*, 1993).

Além de mutantes sinápticos, existem diversos outros tipos de mutantes relacionados aos processos da meiose, que culminam em macho-esterilidade total ou parcial, caracterizada, entre outros fatores, pela ausência completa ou não da produção de grão de pólen, sendo muito comum em diversas espécies. Os estudos realizados em diferentes espécies têm demonstrado que a macho-esterilidade pode ser causada por diferentes tipos de anormalidades, desde as funcionais até as cromossômicas, sendo que estas últimas podem ser visualizadas desde a diacinese, quando muitos univalentes estão presentes, acompanhados de segregações irregulares posteriores (Tara e Namboodiri, 1974; Carapetian e Rupert, 1977; Albertsen e Palmer, 1979; Skorupska e Nawaracala, 1980; Takahashi, 1986; Kaul e Nirmala, 1993, 1994a,b).

2.4. Controle genético da frequência e localização de quiasmas

Por meio de estudos em centeio e milho (Lamm, 1936; Rees, 1955; Parker 1975; Pagliarini, 1980) ficou claro que existe controle genético responsável pela formação de quiasmas. A variabilidade na frequência de quiasmas entre linhagens de uma mesma origem encontrada por esses e outros autores indicou que deveria haver segregação de genes envolvidos nessa característica, sendo

esta de caráter quantitativo. Entre os estudos mais detalhados para esse caráter, citam-se os de Zecevic (1960, 1962), que, ao comparar três linhagens autofecundadas, observou redução na frequência de quiasmas com o aumento da endogamia.

Existem dois sistemas genéticos independentes e diferentes envolvidos na formação de quiasmas em centeio. Um deles conferiria condições para a formação de quiasmas e outro distribuiria os quiasmas ao longo do bivalente (Jones, 1967, 1974; Giraldez e Lacadena, 1978).

Quanto a sua posição dentro do bivalente, os quiasmas podem ser classificados em terminais, proximais e intersticiais. Essa classificação é feita de acordo com a posição dos quiasmas em relação ao centrômero. Entretanto, devido às dificuldades de visualização do centrômero e ao tamanho dos cromossomos em muitas espécies, os quiasmas têm sido classificados apenas em terminais e intersticiais.

2.5 Correlação entre frequência de quiasmas e cromossomos univalentes

Após a degradação do complexo sinaptonêmico no início do diplóteno, os locais em que houve permuta genética tornam-se visíveis através dos quiasmas. Assim, os quiasmas, em geral, são considerados como expressões citológicas da permuta genética, servindo, inclusive, como índice para estimar a taxa de recombinação genética em uma população (Stebbins, 1971).

Os quiasmas desempenham papel importante na regularidade meiótica, porque mantêm a associação dos cromossomos homólogos até a metáfase I, permitindo perfeita disjunção cromossômica e a formação de gametas

geneticamente balanceados. Em decorrência da homozigose gênica para formação de quiasmas ao longo de sucessivas gerações de autofecundações, há um aumento na frequência de cromossomos univalentes (Müntzing e Adik, 1948; Smith e Murphy, 1986, Pagliarini, 1980, 1989). Cromossomos univalentes, em geral, apresentam comportamento peculiar durante a meiose, migrando precocemente para os pólos, podendo formar micronúcleos. Em decorrência da formação de gametas geneticamente desbalanceados, a fertilidade da planta é reduzida.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

A fim de se avaliarem os efeitos da depressão por endogamia sobre o comportamento meiótico, um híbrido triplo de milho-pipoca (S_0) e sete gerações endogâmicas ($S_1 - S_7$) extraídas desse híbrido foram cultivados na Fazenda Experimental da Universidade Estadual de Maringá, localizada na cidade de Iguatemi, Paraná (FEI), no ano agrícola 2004/2005.

A população de milho-pipoca em estudo tratava-se de um híbrido triplo conhecido como Zélia, o qual foi produzido pela Pionner e está disponível a qualquer produtor. Esse híbrido é suscetível ao complexo de enfezamento, ataque da lagarta do cartucho nas folhas e espiga, podridões de espiga e grãos; apresenta grãos laranja tipo pérola e tem boa qualidade de pipoca quando devidamente produzido (Sawazaki, 2001). Em geral, é mais produtivo que os demais tipos de variedades, apresentando uniformidade de plantas e espigas. A semente tem maior custo de produção porque é produzida a partir de linhagens que, por serem endógamas, apresentam menor produção (Cruz *et al.*, 2004). A população foi autofecundada até o sétimo ciclo, sendo suas progênes representadas por S_1 a S_7 .

Os tratamentos constituíram de oito gerações (S_0 a S_7) e para cada geração foram analisadas nove plantas. O experimento foi delineado em blocos ao acaso, com três repetições. De cada bloco foram avaliadas três plantas. Antes de proceder à ANOVA, os erros foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk

para normalidade e Levene para homogeneidade de variâncias e é razoável supor que os erros atendem às pressuposições básicas para ANOVA.

3.2 Preparação citológica dos microsporócitos

Para a análise meiótica, inflorescências masculinas foram coletadas ainda enquanto envolvidas pela folha bandeira e fixadas em Carnoy (3 álcool etílico : 1 ácido acético) por 24 horas. Após esse período, o material foi lavado com álcool 70% e transferido para novo álcool 70%, sendo, em seguida, acondicionado sob refrigeração até o momento de se iniciarem as análises meióticas. Os microsporócitos foram preparados pela técnica de esmagamento e corados com carmim propiônico a 1%.

3.3 Coleta de dados

A contagem de quiasmas foi feita imediatamente após o preparo das lâminas, sendo os quiasmas contados em 20 células em diacinese tardia por planta. Essas células foram tomadas ao acaso em duas ou três lâminas preparadas com uma das anteras da flor retirada de diferentes ramos laterais da inflorescência. Foram feitas contagens dos quiasmas terminais e intersticiais, cuja soma representa o número de quiasma total. Os valores obtidos nas contagens foram expressos como frequência média de quiasmas por planta.

Para cada planta, foram avaliadas por volta de 550 células, sendo 50 para cada fase meiótica, compreendida entre prófase I e tétrade, as quais foram amostradas de diferentes pontos da inflorescência. Todas as anormalidades

foram consideradas. As anormalidades mais representativas foram fotografadas em filme branco e preto Kodak Imagelink, ASA 50.

Os efeitos da endogamia sobre os caracteres citológicos avaliados durante a microsporogênese foram analisados estatisticamente por meio de regressão polinomial, em nível de 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Frequência de quiasmas

As médias das variáveis frequência de quiasmas totais (FQT), frequência de quiasmas terminais (FQt) e frequência de quiasmas intersticiais (FQi), cromossomos univalentes e células anormais (CA) estão apresentadas no Quadro 1. As análises de variância para essas variáveis estão apresentadas no Quadro 2.

Com base nos dados, pode-se concluir que houve diferenças significativas ($p < 0,05$) para frequência de quiasmas totais, terminais e intersticiais para as gerações da população Zélia, indicando que existem diferenças entre as gerações endogâmicas, com exceção de células anormais.

Quadro 1 Médias para as variáveis CA (células anormais - %), FQT (frequência de quiasmas totais - %), FQt (frequência de quiasmas terminais - %), FQi (frequência de quiasmas intersticiais - %) e univalentes, ao longo das gerações S₀ a S₇ para o híbrido triplo Zélia

Gerações	CA	FQT	FQt	FQi	Univalentes
S ₀	0,96	18,66	16,03	2,75	2,88
S ₁	1,69	17,36	15,02	2,33	1,00
S ₂	2,73	18,07	14,50	3,57	1,77
S ₃	1,32	18,05	14,86	3,18	2,33
S ₄	2,49	16,81	14,65	2,16	3,22
S ₅	2,46	16,60	13,86	2,73	4,66
S ₆	2,91	16,13	12,30	3,83	4,11
S ₇	2,36	15,57	11,78	3,78	4,00
Média geral	2,12	17,16	14,13	3,04	3,00

Quadro 2 Análise de variância para as variáveis CA (células anormais), FQT (frequência de quiasma total), FQt (frequência de quiasma terminal), FQi (frequência de quiasma intersticial) e univalentes, para as gerações S₀ a S₇ para o híbrido triplo Zélia

FV	GL	QM				
		CA	FQT	FQt	FQi	Univalentes
Gerações	7	4,4634 ^{NS}	10,1645*	18,3661*	3,7750*	14,1587*
Resíduo	64	3,2784	0,6136	0,8033	0,2120	2,7326
CV (%)	-	85,48	4,56	6,34	15,11	55,10
Média	-	2,11	17,16	14,13	3,04	3,00

NS: não significativo (p>0,05); * : significativo (p<0,05).

É possível visualizar, nas Figuras 1 e 2, que a frequência de quiasmas totais (FQT) e terminais (FQt) apresentaram tendência linear decrescente (p<0,05) em função das gerações de autofecundação. Em cada geração de autofecundação, a FQT e FQt diminuíram 0,398% e 0,542%, respectivamente.

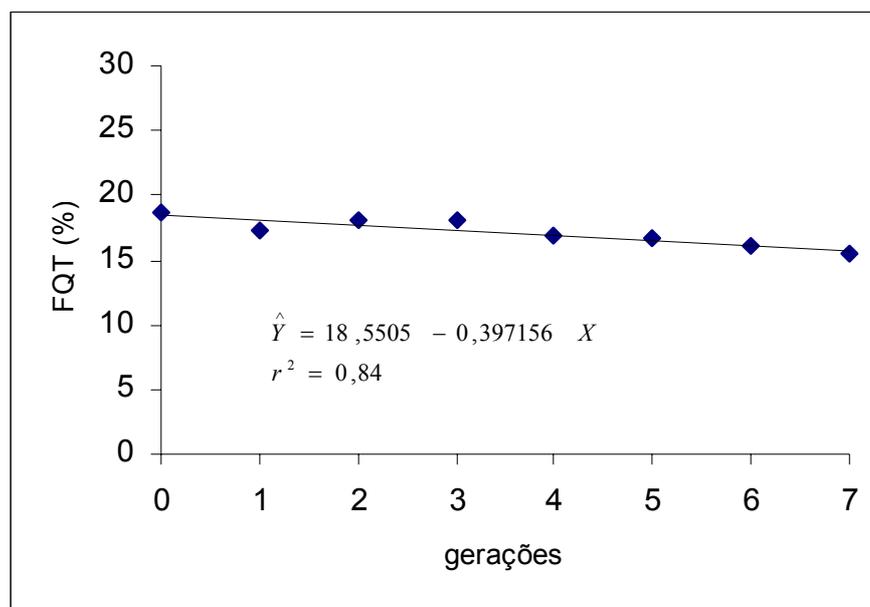


Figura 1 Frequência de quiasmas totais (FQT - %) em função das gerações de autofecundação do híbrido triplo Zélia

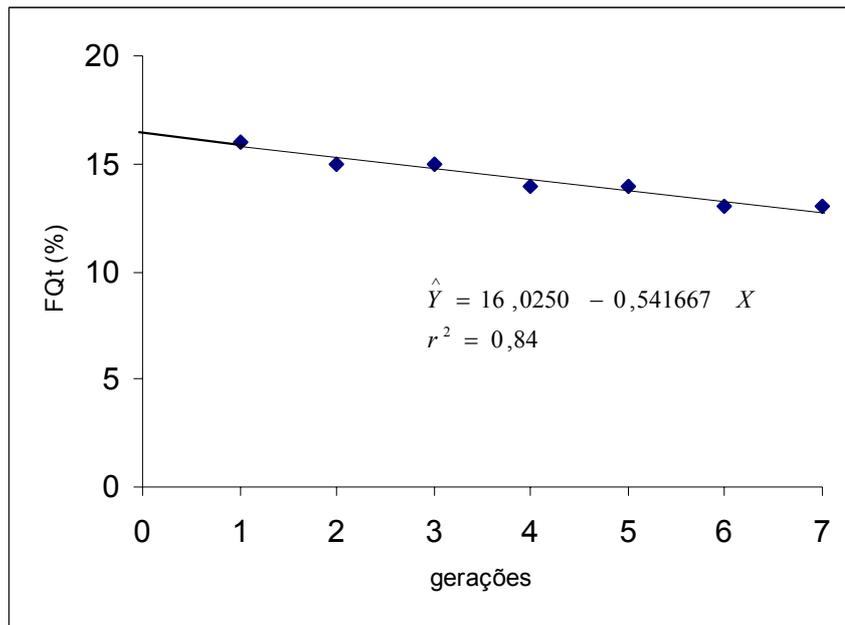


Figura 2 Freqüência de quiasmas terminais (FQt - %) em função das gerações de autofecundação do híbrido triplo Zélia.

Pelos resultados obtidos, fica claro que, assim como comprova a literatura (Lamm, 1936; Rees e Thompson, 1955, 1958; Pagliarini, 1980, 1983, 1989; Karp e Jones, 1983; Lein e Lelley, 1987), a depressão por endogamia tende a interferir nos genes que controlam os quiasmas, colocando-os em homozigose, fazendo com que o aumento das autofecundações provoque diminuição na freqüência total de quiasmas. Assim, linhagens extraídas de uma mesma população, quando submetidas a alguns ciclos de autofecundação, podem apresentar diferenças drásticas na freqüência de quiasmas dependendo do balanço de genes dominantes e recessivos recebidos por cada uma delas. A freqüência de quiasmas tem herança poligênica, apresentando dominância completa (Pagliarini *et al.*, 1986a).

Contrariando os resultados das freqüências de quiasmas totais e terminais, verifica-se que a freqüência de quiasmas intersticiais (FQi - %) não demonstrou

tendência linear significativa ($p > 0,05$) em função das gerações de autofecundação (Figura 3).

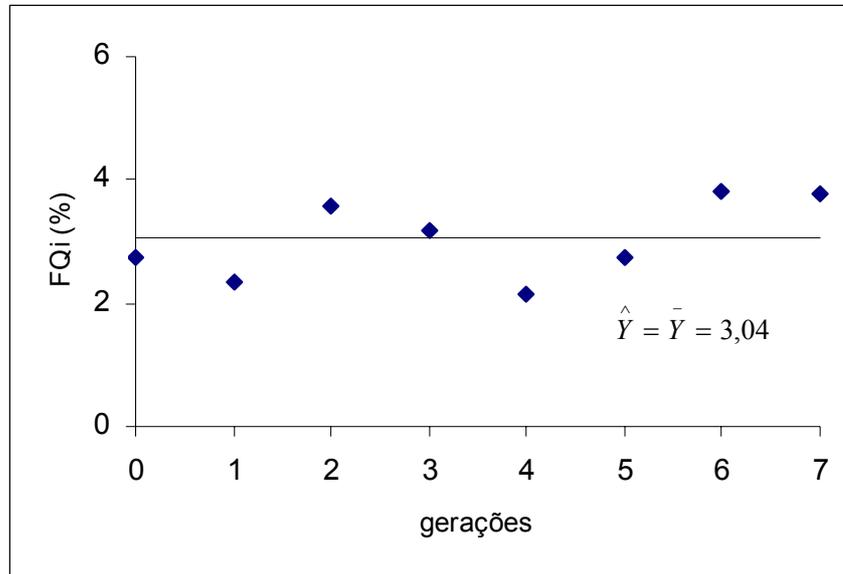


Figura 3 Frequência de quiasmas intersticiais (FQI - %) em função das gerações de autofecundação do híbrido triplo Zélia.

Correlação entre frequência total de quiasmas e frequência de quiasmas intersticiais não foi encontrada em estudos realizados em centeio (Lelley, 1978; Lein e Lelley, 1987), em *Lolium perenne* (Karp e Jones, 1983) e em milho (Pagliarini, 1989). Esse resultado pode ser explicado a partir do controle genético da localização de quiasmas. Estudos têm demonstrado que o controle genético para a frequência de quiasmas totais é independente do controle genético para a localização dos quiasmas (Jones e Rees, 1964; Jones, 1967; Karp e Jones, 1983). Tal controle foi considerado como sendo poligênico por Lein e Lelley (1987). Assim, uma diminuição da frequência de quiasmas totais não necessariamente implica em uma diminuição da frequência de quiasmas intersticiais, como foi observado neste e nos experimentos citado acima.

4.2 Ocorrência de cromossomos univalentes

A porcentagem de células com cromossomos univalentes em cada geração da população Zélia está apresentada no Quadro 1. Observa-se, na Figura 4, que houve uma tendência gradual crescente de univalentes em função das gerações de autofecundação, com aumento de 0,392% em cada geração. Esse resultado está relacionado com as Figuras 1 e 2, ou seja, há correlação negativa entre freqüência de quiasmas e número de univalentes.

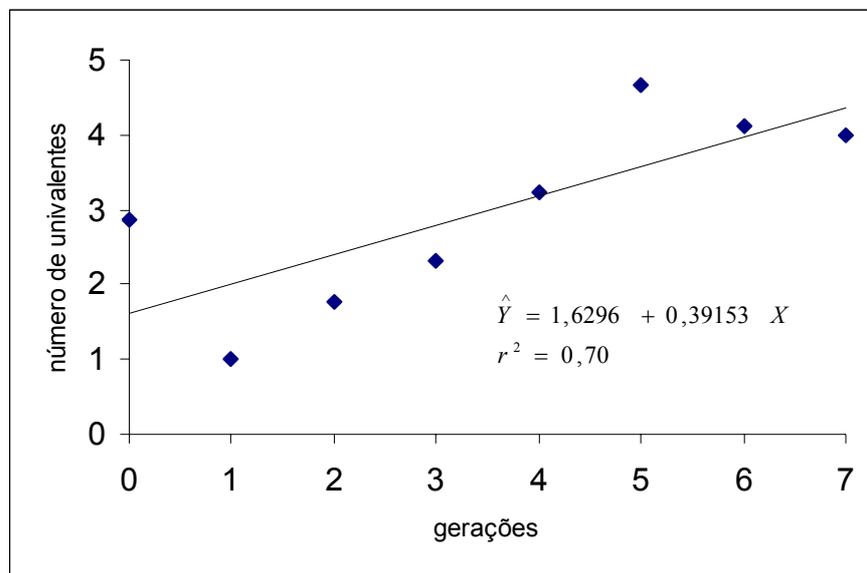


Figura 4 Número de univalentes em função das gerações de autofecundação do híbrido triplo Zélia.

Durante a microsporogênese, eventos ordenados e seqüenciais, como pareamento de cromossomos homólogos, permuta genética, formação de quiasmas e correta disjunção cromossômica culminam na redução do número de cromossomos nos gametas. Todos esses eventos são controlados geneticamente por genes maiores ou poligenes, sendo, portanto, mutáveis (Gottschalk e Kaul,

1974, Koduru e Rao, 1981; Golubovskaya, 1979, 1989). Quando um desses eventos é alterado, as etapas subseqüentes do processo meiótico tendem a apresentar irregularidades que afetam a formação de gametas geneticamente balanceados. Sendo assim, os quiasmas desempenham a importante função de manter a estrutura do bivalente até a metáfase I para que haja perfeita segregação dos homólogos.

Plantas alógamas como o milho-pipoca, quando submetidas a sucessivos ciclos de autofecundação, perdem 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 os cromossomos univalentes. A Figura 6 ilustra meiócitos com cromossomos univalentes nas gerações segregantes da população Zélia.

Estudos realizados em diferentes espécies têm demonstrado uma correlação negativa entre univalentes e fertilidade (Moraes-Fernandes, 1982; Moraes-Fernandes *et al.*, 1984; Smith e Murphy, 1986, Pagliarini; 1983, 1989; Pagliarini *et al.*, 1986b). A correlação entre univalentes e fertilidade ocorre devido ao fato dos cromossomos não sofrerem disjunção regular na meiose. Como conseqüência, são formados micrósporos com um número não balanceado de cromossomos, resultando em aborto de pólen. O comportamento dos cromossomos univalentes em milho-pipoca é exemplificado na Figura 6.

Quando comparado com resultados obtidos em outros estudos sobre linhagens endogâmicas de milho comum (Pagliarini, 1983, 1989; Pagliarini *et al.*, 1986b), o número de univalentes encontrado nas linhagens endogâmicas de milho-pipoca sob análise foi muito baixo. Correlação negativa tem sido encontrada entre freqüência de univalentes e capacidade de combinação em linhagens

endogâmicas (Pagliarini, 1983, 1989; Pagliarini *et al.*, 1986b), nas quais linhagens com baixa capacidade de combinação apresentavam alta frequência de univalentes.

4.3 Ocorrência de anormalidades meióticas

O Quadro 1 mostra um acréscimo na porcentagem de células com anormalidades meióticas no decorrer da endogamia. A porcentagem de células anormais por planta e ao longo das gerações de autofecundação apresentou tendência linear crescente (Figura 5), sendo que em cada geração de autofecundação a frequência de células anormais aumentou 0,193% no híbrido triplo Zélia.

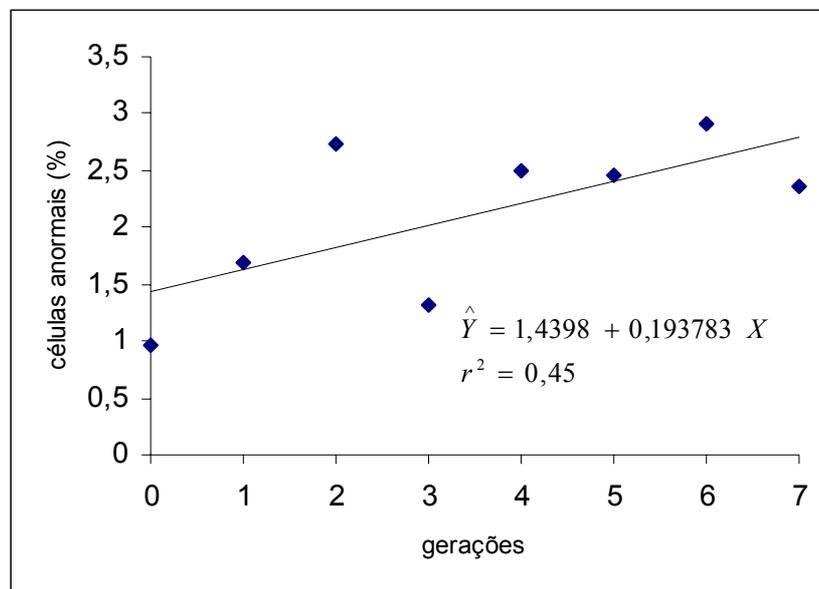


Figura 5 Frequência de células anormais em função das gerações de autofecundação do híbrido triplo Zélia.

A meiose é um processo geneticamente controlado e, portanto, sujeito a mutações. Em plantas alógamas, quando a heterozigose é quebrada por autofecundações forçadas, anormalidades meióticas, além de univalentes, podem surgir. Inúmeros tipos de anormalidades meióticas têm sido descritos em plantas endogâmicas de centeio (Rees, 1955; Rees e Thompson, 1955), rabanete (Dayal, 1979), milho (Pagliarini, 1980, 1983, 1989; Defani-Scoarize *et al.*, 1995, 1996; Caetano-Pereira *et al.*, 1998, 1999).

No material em estudo, além da presença de univalentes decorrentes da baixa frequência de quiasmas, outras anormalidades meióticas foram observadas a partir da geração S_1 . Assinapse parcial foi encontrada em alguns meiócitos (Figuras 6a, b), células anucleadas (Figura 6i), ausência de citocinese após a primeira e/ou a segunda divisão meiótica (Figura 7), fusões celulares envolvendo duas ou mais células (Figura 8) e células com morfologia alterada (Figura 9).

A frequência de quiasmas depende não apenas dos poligenes envolvidos na formação de quiasmas, mas também de genes maiores que atuam no sentido de promover o pareamento cromossômico (genes sinápticos), garantindo a ocorrência de permuta genética, bem como de genes que atuam após a permuta genética (genes dessinápticos), afetando a manutenção dos quiasmas (Koduru e Rao, 1981). Nos meiócitos de milho-pipoca, observou-se apenas assinapse parcial (intersticial ou terminal) em alguns cromossomos (Figura 6a, b). Essa assinapse impediu a ocorrência de permuta genética nessa região, reduzindo, por conseguinte, a formação de quiasmas.

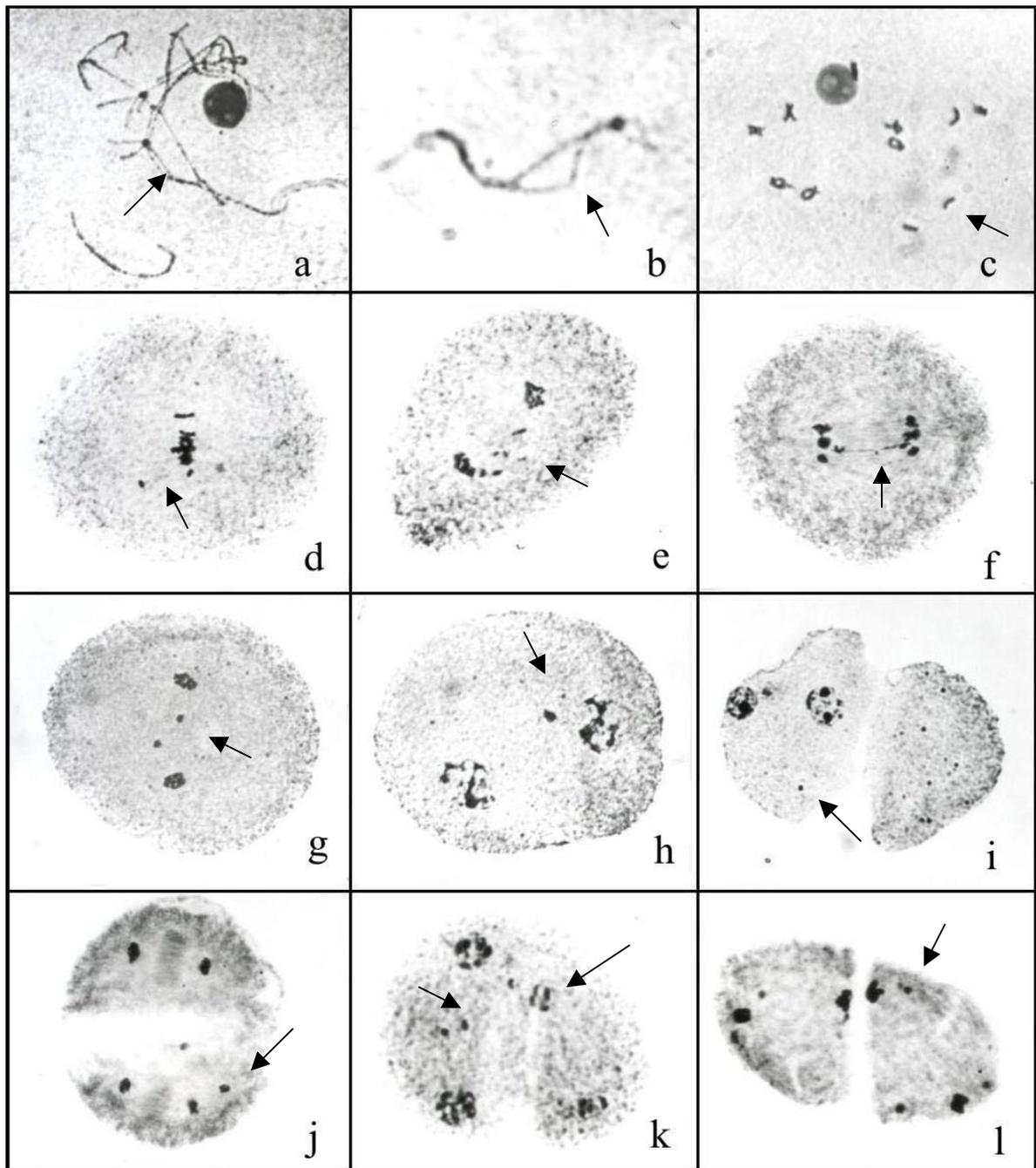


Figura 6 Segregação irregular dos cromossomos no híbrido triplo Zélia. Assinapse intersticial e terminal em paquíteno (a); asinapse terminal e intersticial em paquíteno (b); diacinese com univalentes (c); metáfase I com cromossomos em ascensão precoce (d); cromossomos retardatários (e) e ponte (f) em anáfase I; telófase I com micronúcleo (g, h); prófase II com migração de núcleo e uma célula anucleada (i); anáfase II com cromossomo retardatário (j); telófase II com micronúcleo (k,l).

Em algumas plantas, houve ausência de citocinese após a primeira e/ou a segunda meiose. Quando a citocinese não ocorreu após a primeira divisão e ocorreu normalmente após a segunda divisão, houve formação de díades; quando a citocinese ocorreu após a primeira divisão e falhou na segunda divisão em ambas as células, também houve formação de díades. No entanto, se na segunda divisão somente uma das células sofreu citocinese, o produto final foi uma tríade. Tanto em díades quanto em tríades, os micrósporos podem ser binucleados ou os núcleos podem sofrer fusão, formando um núcleo de restituição $2n$. Micrósporos binucleados e micrósporos $2n$ foram observados nas plantas de milho-pipoca com ausência de citocinese. Ausência de citocinese também foi descrita em linhagens endogâmicas de milho (Golubovskaya, 1989; Caetano-Pereira, 1995; Defani-Scoarize *et al.*, 1996).

Beadle (1932) foi o pioneiro a descrever um gene que afetava a citocinese. O gene *va* (*variable sterile*) é responsável pela formação parcial ou pela não formação da membrana celular que separa as células durante a citocinese. O alelo *va1* causa distúrbios de citocinese na meiose I e II e o alelo *va2* age somente durante a meiose I (Caetano-Pereira *et al.*, 1998). Rhoades e Dempsey (1966) descreveram outro gene que afeta a citocinese, o gene *el* (*elongate*), o qual promove desespiralização cromossômica, causando defeitos na citocinese, interrompendo a segunda divisão. No caso da população do milho-pipoca em estudo, não se pode afirmar qual gene causou ausência de citocinese, pois testes de alelismo não foram efetuados.

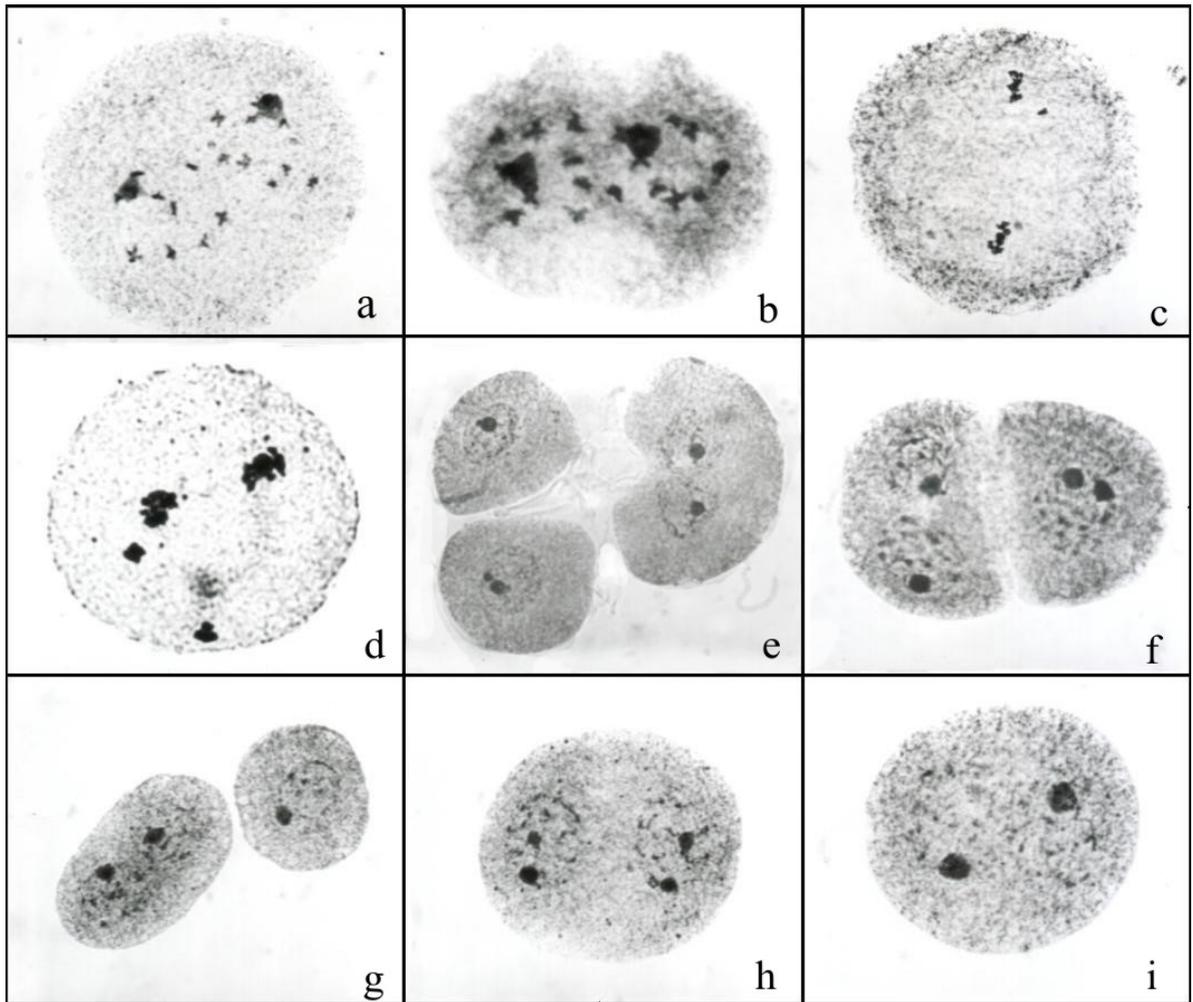


Figura 7 Ausência de citocinese no híbrido triplo Zélia. Ausência de citocinese em prófase II (a,b); ausência de citocinese e cromossomo em ascensão em metáfase II (c); metáfase II com desorganização de fuso e conjuntos de cromossomos fora da placa metafásica (d); tríade (e); díade com um micrósporo binucleado e outro com núcleo de restituição 2n (f); comparação de micrósporo normal com micrósporo binucleado (g); micrósporo binucleado (h); micrósporo 2n (i).

As fusões celulares encontradas em uma planta da população Zélia foram observadas apenas nas primeiras fases da meiose I (zigóteno, paquíteno e diacinese), envolvendo duas ou mais células, porém sem fusão dos núcleos.

Fusões celulares em microsporócitos de milho foram descritas por Defani-Scoarize *et al.* (1996) e por Pagliarini (1989). Fusões celulares em milho-pipoca himalaio foram descritas por Peeters *et al.* (1985). De acordo com Nirmala e Rao (1996), o sincício formado por fusões celulares é uma massa periplasmodial contendo mais de um núcleo e os quiasmas podem ocorrer individualmente ou unidos, formando núcleos poliplóides.

Alguns genes têm sido descritos por atuarem na formação de fusão celular e degeneração de cromatina. São eles: *pam1*, *pam2* e *pamA344* (Golubovskaya, 1989). Em muitas espécies, a formação do sincício é de caráter monogênico. Além desses genes, Robertson (1978) verificou relação entre a presença do transposon *Mutator* e essa anormalidade meiótica. Este transposon tem preferência de atividade no final da mitose premeiótica e/ou durante o processo meiótico. Fusão celular, causada ou não em decorrência de uma degeneração cromatínica, com formação de produto final anormal, afeta as plantas, causando macho-esterilidade.

Fusões celulares têm sido raramente descritas em meiose II. Geralmente os sincícios formados pela fusão de muitas células não chegam à segunda divisão, indicando que podem sofrer degeneração ao final da meiose I. O número de sincícios na população em estudo foi baixo, dificultando a visualização de seu comportamento na segunda divisão. Em uma linhagem endogâmica de milho analisada por Caetano-Pereira *et al.* (1998), o número de sincícios foi elevado e seu comportamento pode ser observado também na segunda divisão em algumas células, nas quais grãos de pólen gigantes foram observados.

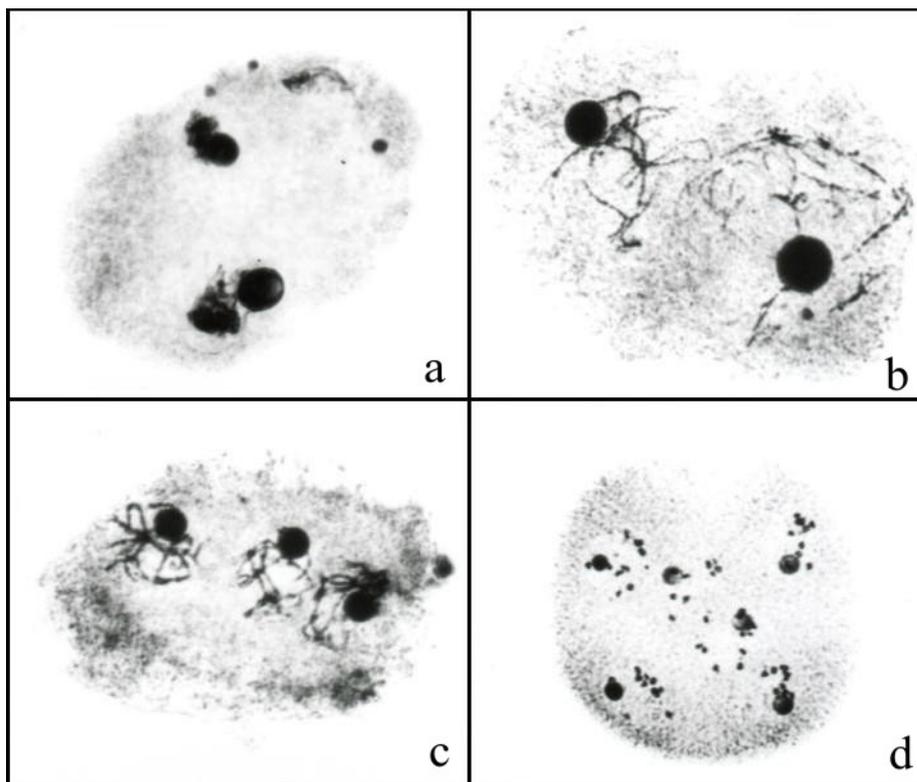


Figura 8 Fusão com diferentes números de células no híbrido triplo Zélia. Fusão com 2 zigótenos (a); fusão de 2 (b) e 3 (c) paquítenos; fusão de 6 diacineses (d).

Alterações na morfologia do meiócito são demonstradas na Figura 9. Alterações de morfologia celular são comumente observadas em diversos protistas. Em células de plantas, a ocorrência de alteração morfológica é mais rara devido à presença da parede celular. Não obstante, essas anormalidades já foram verificadas em híbridos entre *Elymus scribniri* x *P. juncea* (Dewey, 1967) e em *Agropyron cristatum* (Chen, 1978). Alterações idênticas às observadas no presente estudo foram descritas em uma linhagem endogâmica de milho (Caetano-Pereira e Pagliarini, 1996). Como a alteração da morfologia celular não afeta a microsporogênese, o produto meiótico resultante dessas células é normal.

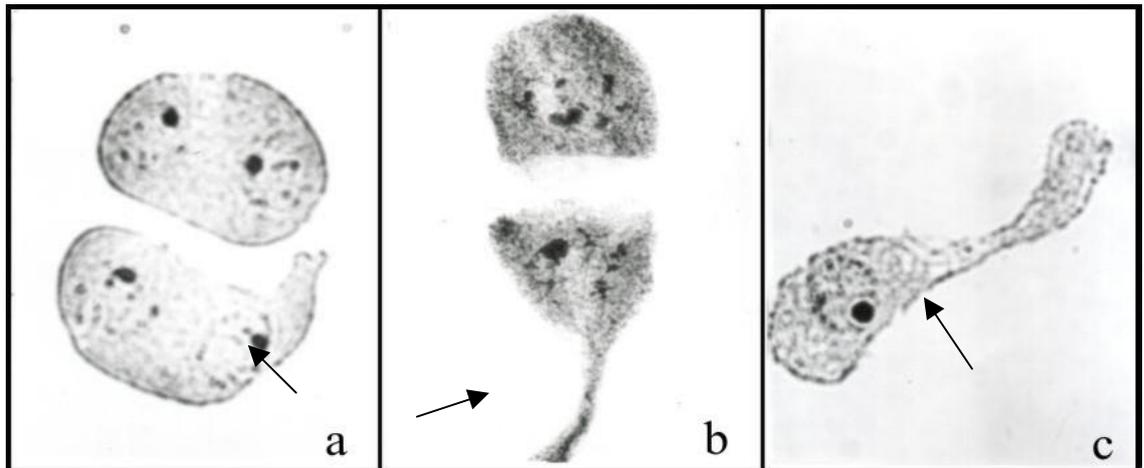


Figura 9 Alteração de morfologia no híbrido triplo Zélia. Alteração de morfologia em prófase II (a,b) e micrósporo (c).

Os resultados obtidos na análise da microsporogênese na população-mãe Zélia e nas linhagens endogâmicas delas extraídas apontam que a endogamia colocou em homozigose não somente genes maiores que controlam passos importantes do processo meiótico, como também os genes que controlam a citocinese, afetando inclusive a heterozigose gênica responsável pela manutenção de uma alta frequência de quiasmas.

A frequência de anormalidade meióticas, incluindo a frequência de univalentes decorrentes da redução da frequência de quiasmas ao longo das gerações de endogamia, foi bastante baixa quando comparada com linhagens endogâmicas previamente analisadas por Pagliarini (1980, 1983, 1989) e Pagliarini *et al.* (1986b), Defani-Scoarize *et al.* (1995, 1996), Caetano-Pereira *et al.* (1998, 1999). Na maioria desses casos, as linhagens eram derivadas de populações oriundas do Centro Nacional de Milho e Sorgo. As linhagens com

baixa capacidade de combinação sempre apresentaram menor frequência de quiasmas e maior frequência de cromossomos univalentes, além de outras anormalidades meióticas. Embora as linhagens em estudo não tenham sido testadas para sua capacidade de combinação, sua regularidade meiótica pode assegurar, pelo menos em parte, que estas possam apresentar um bom desempenho na formação de híbridos.

5. CONCLUSÕES

As análises citológicas efetuadas na população Zélia e suas gerações endogâmicas revelaram que:

- As freqüências de quiasmas totais e terminais diminuíram com o avanço das gerações de autofecundação.

- A freqüência de quiasmas intersticiais manteve-se constante ($\hat{Y} = \bar{Y} = 3,04$) ao longo das gerações de autofecundação.

- O número de cromossomos univalentes aumentou em função das gerações de autofecundações.

- O número de células anormais também aumentou pouco com o aumento de aufecundações.

Esses resultados sugerem que alguns genes maiores e poligenes responsáveis por diferentes controles da microsporogênese foram colocados em homozigose durante a obtenção de endogamia, levando ao aparecimento de algumas anormalidades meióticas em baixa freqüência.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTSEN, M.C.; PALMER, R.G. A comparative light and electron-microscopic study of microsporogenesis in male sterile (*ms1*) and male fertile soybeans (*Glycine max* [L.] Merr.). **Am. J. Bot.**, v. 66, p. 253-265, 1979.

ALLARD, R.W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. São Paulo: Edgard Blücher, 1971, 381p.

ANDERSON, L.K.; STACK, S.M. Meiotic recombination in plants. **Curr. Genom.**, v. 3, p. 507-525, 2002.

BEADLE, G.W. A gene in *Zea mays* for failure of cytokineses during meiosis. **Cytologia**, v. 3, p. 112-133, 1932.

BEADLE, G.W.; McCLINTOCK, B. A genic disturbance of meiosis in *Zea mays*. **Science**, v. 68, p. 433, 1928.

CAETANO-PEREIRA, C.M. **Influência da acidez do solo e do genótipo sobre a aderência cromossômica em microsporócitos de milho**. Master's Thesis. Fundação Universidade Estadual de Maringá, Maringá-Pr, 1995, 18p.

CAETANO-PEREIRA, C.M.; PAGLIARINI, M.S. Unusual shapes of maize microsporocytes. **Nucleus**, v. 39, p. 107-110, 1996.

CAETANO-PEREIRA, C.M.; PAGLIARINI, M.S. Cytomixis in maize microsporocytes. **Cytologia**, v. 62, p. 351-355, 1997.

CAETANO-PEREIRA, C.M.; DEFANI-SOARIZE, M.A.; PAGLIARINI, M.S.; BRASIL, E.M. Syncytes, abnormal cytokinesis and spindle irregularities in maize microsporogenesis. **Maydica**, v. 43, p. 235-242, 1998.

CAETANO-PEREIRA, C.M.; PAGLIARINI, M.S.; BRASIL, E.M. Cell fusion and chromatin degeneration in an inbred line of maize. **Genet. Mol. Biol.**, v. 22, p. 69-72, 1999.

CARAPETIAN, J.; RUPERT, E.A. Meiotic irregularities caused by interacting sterility genes in cultivated safflower (*Carthamus tintctorius*). **Can. J. Genet. Cytol.**, v. 19, p. 103-109, 1977.

CHEN, R. Cytoplasmatic cleavage during microsporogenesis in *Agropyron cristatum*. **Taiwania**, v. 23, p. 105, 1978.

CRUZ, J.C.; CORRÊA, L.A.; FILHO, I.A.P.; PEREIRA, F.T.F.; GUISTEM, J.M.; VERSANI, R.P., 2004. **Cultivares de Milho disponíveis no mercado de sementes do Brasil para a safra 2004/05**. Disponível em:

http://www.apps.agr.br/Files/Artigo/Cultivares_Milho_Brasil.htm. Acesso em 14/09/05.

DAYAL, N. Cytogenetical studies in the inbred lines of radish (*Raphanus sativus* L. Var. *radicola* Pers.) and their hybrids; III. Meiotic abnormalities. **Cytologia**, v. 44, p. 1-5, 1979.

DEFANI-SCOARIZE, A.A.; PAGLIARINI, M.S.; AGUIAR, C.G. Causes of partial male sterility in a inbred maize line. **Cytologia**, v. 60, p. 311-318, 1995.

DEFANI-SCOARIZE, M. A.; PAGLIARINI, M.S.; AGUIAR, C.G. Meiotic behavior of inbred lines of maize (*Zea mays* L.). **Nucleus**, v. 39, p. 10-18, 1996.

DEWEY, D.R. Synthetic hybrids of *Agropyron scribniri* X *Elymus junceus* **Bull. Torrey. Bot. Club.**, v. 94, p. 388, 1967.

FALCONER, D.S. **Introducción a la genética cuantitativa**. Ciudad del México: Compañía Editorial Continental, 1976. 430p.

FERRÃO, R.G.; SILVA, J.C.; CRUZ, C.D. Avaliação da capacidade combinatória de oito linhagens de milho em sistema dialélico desbalanceado. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 15: Maceió, 1984. **Anais**. Sete Lagoas, EMBRAPA/CNPMS, 1986, p.171-176.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D.; BRISCOE, D.A. **Introduction to conservation genetics**. Cambridge University Press. Cambridge, UK, 2002. In: MOONEY, E. Inbreeding in plants: introducion, GEN 535, 4/20/04

http://www.as.wvu.edu/~kgarbutt/QuantGen/Gen535_2_2004/Inbreeding_Plants.htm.

GALVÃO, J.C.C.; SAWAZAKI, E.; MIRANDA, G.V. Comportamento de híbridos de milho-pipoca em Coimbra, Minas Gerais. **Ceres**, v. 47, p. 201-218, 2000.

GIRALDEZ, R.; LACADENA, J.R. Relationships between frequency, localization and errors in chiasma formation in desynaptic rye. **Chromosoma**, v. 66, p. 193-204, 1978.

GOLUBOVSKAYA, I.N. Genetic control of meiosis. **Int. Rev. Cytol.**, v. 58, p. 247-290, 1979.

GOLUBOVSKAYA, I.N. Meiosis in maize: *mei* genes and conception of genetic control of meiosis. **Adv. Genet.**, v. 26, p. 149-192, 1989.

GOOD, R.L.; HALLAUER, A.R. Inbreeding depression in maize by selfing and full-sibbing. **Crop Science**, v.17, p.935-940, 1977.

GOTTSCHALK, W.; KAUL, M.L.R. The genetic control of microsporogenesis in higher plants. **Nucleus**, v. 17, p. 133-166, 1974.

HALLAUER, A.R.; MIRANDA FILHO, J.B. **Quantitative genetics in maize breeding**. Ames, Iowa State University Press, 1981, 468p.

HALLAUER, A. R. Methods used in developing maize inbred lines. **Maydica**, v.35, p.1-16, 1990.

HASENKAMPF, C. A. Synaptonemal complex formation in pollen mother cells of *Tradescantia*. **Chromosoma**, v. 90, p. 275-284, 1984.

HERICKHOFF, L.; STACK, S; SHERMAN, J. The relationship between synapsis, nodules.recombination and chiasmata in tomato translocation heterozygotes. **Heredity**, v. 71, p. 373-385, 1993.

JONES, G.H. The control of chiasma distribution in rye. **Chromosoma**, v. 22, p. 69-90, 1967.

JONES, G.H. Correlates components of chiasma variation and the control of chiasma distribution in rye. **Heredity**, v. 32, p. 375-389, 1974.

JONES, G.H.; REES, H. Genoptic control of chromosome behavior in rye; VIII. The distribution of chiasma within pollen mother cells. **Heredity**, v.19, p. 719-730, 1964.

KARP, A.; JONES, R.N. Cytogenetics of *Lolium perenne* II. Chiasma distribution in inbred lines. **Theor. Appl. Genet.**, v. 64, p. 137-145, 1983.

KASSOUT, A.L.; MIRANDA FILHO, J.B. **Variabilidade e endogamia na população de milho ESALQ-PB**. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 15; Maceió, 1984. Anais. Sete Lagoas, EMBRAPA/CNPMS, 1986, p.119-131.

KAUL, M.L.H. Male Sterility in Higher Plants. **Monogr. Theor. Appl. Genet.** No. 10, Springer-Verlag, Berlin, 1988.

KAUL, M.L.H.; NIRMALA, C. Male sterility in Pea IV. Meiotic absence, arrest, breakdown and continuation. **Cytologia**, v. 58, p. 247-255, 1993.

KAUL, M.L.H.; NIRMALA, C. Male sterility in Pea V. Gene action during heterotypic and homotypic divisions. **Cytologia**, v. 59, p. 43-50, 1994a.

KAUL, M.L.H.; NIRMALA, C. Male sterility in Pea VI. Gene action duplicity. **Cytologia**, v. 59, p. 195-201, 1994b.

KODURU, P.R.K.; RAO, M.K. Cytogenetics of synaptic mutants and fertility interrelationships in prairie *Bromus inermis* Leyss. populations. **Cytologia**, v. 37, p. 747-757, 1981.

LAMKEY, K.R.; SCHNICKER, B.J.; MELCHINGER, A E. Epistasis in an elite maize hybrid and choice of generation for inbred line development. **Crop Sci.**, v. 35, n. 5, p. 1272-1281, 1995.

LAMM, R. Cytological studies on inbred rye. **Hereditas**, v. 22, p. 217-240, 1936.

LEIN, V.; LELLEY, T. A separate control for frequency and distribution of chiasma in rye (*Secale cereale* L.). **Genome**, v. 29, p. 419-424, 1987.

LELLEY, T. Genetic control of chiasma frequency and distribution in rye *Secale cereale*. **Can. J. Genet. Cytol.**, v. 20, p. 417-424, 1978.

LIMA, M.; MIRANDA FILHO, J.B.; GALLO, P.B. Inbreeding depression in Brazilian populations of maize (*Zea mays* L.). **Maydica**, v. 29, p. 203-215, 1984.

MAGUIRE, M. P. The role of the synaptonemal complex in pairing and crossing over. **Maydica**, v. 42, p. 227-238, 1997.

METTLER, L.E.; GREGG, T.G. **Genética de populações e evolução**. São Paulo: Polígono/EDUSP, 1973. 262p.

MORAES-FERNANDES, M.I.B. Estudo da instabilidade meiótica em cultivares de trigo. Efeito genotípico, relação com fertilidade e seleção de plantas estáveis. **Pes. Agropec. Bras.**, v.17, p. 1177-1191, 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.

MÜNTZING, A.; AKDIK, S. Cytological disturbances in the first inbred generations of rye. **Hereditas**, 34: 485-509, 1948.

NASS, L.L.; MIRANDA FILHO, J.B. Inbreeding depression rates of semi-exotic maize (*Zea may L.*) populations. **Rev. Bras. Gen.**, v. 18, p. 585-592, 1995.

NIRMALA, A.; RAO, P.N. Genesis of chromosome numerical mosaicism in higher plants. **Nucleus**, v. 39, p. 151-175, 1996.

PAGLIARINI, M.S. **Controle genético de frequência de quiasmas em milho (*Zea mays L.*)**. Mestrado – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/USP, Piracicaba-SP), 113p, 1980.

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**, v. 5, p. 37-46, 1983.

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, p.189-194, 1986a.

PAGLIARINI, M.S.; MIRANDA-FILHO, J.B.; AGUIAR-PERECIN, M.L.R. **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, p.183-188, 1986b.

PAGLIARINI, M.S. **Avaliação da frequência de quiasmas em milho (*Zea mays* L.) e suas implicações com a capacidade de combinação para a produção de grãos.** Doutorado – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/USP, Piracicaba-SP, 1989.

PARKER, J.S. Chromosome-specific control of chiasma formation. **Chromosoma**, v. 49, p. 391-406, 1975.

PATERNIANI, E. **Melhoramento e produção de milho no Brasil.** São Paulo: Fund. Cargil, 1978. 650p.

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.**, v. 27, p. 580-585, 1985.

REES, H. Genotypic control of chromosome behavior in rye I. Inbreed lines. **Heredity**, v. 9, p. 93-116, 1955.

REES, H.; THOMPSON, J.B. Localization of chromosome breakage at meiosis. **Heredity**, v. 9, p. 399-407, 1955.

REES, H.; THOMPSON, J.B. Genotypic control of chromosome behavior in rye V. The distribution pattern of chiasmata between pollen mother-cells. **Heredity**, v. 12, p. 101-111, 1958.

RHOADES, M.M.; DEMPSEY, E. Induction of chromosome doubling at meiosis by the *elongate* gene in maize. **Genetics**, v. 54, p. 505-522, 1966.

ROBERTSON, M.M. Characterization of a mutator system in maize. **Mut. Res.**, v. 51, p. 21-28, 1978.

SAWAZAKI, E. Pesquisador científico do CEGRAN-IAC, 2001. Disponível em: http://www.serrana.com.br/f_boletins.asp?Tipo=f&id=8. Acesso em: 14/06/2005.

SCAPIM, C.A.; PACHECO, C.A.P.; TONET, A.; BRACCINI, A de L.; PINTO, R.J.B. Análise dialélica e heterose de populações de milho-pipoca. **Bragantia**, v. 61, n. 3, p. 219-330, 2002.

SCAPIM, C.A.; BRACCINI, A. L.; PINTO, R.J.B.; JUNIOR, A.T.A.; RODOVALHO, M.A.; SILVA, R.M.; MOTERLE, L.M. Componentes genéticos de médias e depressão por endogamia em populações de milho-pipoca. **Ciência Rural**, v.36, n.1, p. 326-41, 2006.

SCHULZ-SCHAEFFER, J. **Cytogenetics - plants, animals, humans**. New York: Springer-Verlag, 1980. 446 p.

SINGH, R. J. **Plant cytogenetics**. Florida: CRC Press, 1993. 391 p.

SKORUPSKA, H.T.; NAWRACALA, J. Observation of pollen grains of soybean plants in male-sterile line Urbana *ms1*. **Genet. Pol.**, v. 21, p. 33-37, 1980.

SILVA, W.J. **Estudo amplia pesquisa de milho**. Jornal da UNICAMP, Campinas, maio, 1993.p.8.

SIMON, G. A.; SCAPIM, C. A.; CLESO ANTÔNIO PATTO PACHECO, C. A. P.; PINTO, R. J. B.; ALESSANDRO DE LUCCA E BRACCINI, A. L; UTSUNOMIYA, K.S.; BIONE, N.C.P.; PAGLIARINI, M.S. How many different kinds of meiotic abnormalities could be found in a unique endogamous maize plant? **Cytologia**, v. 67, p. 169-176, 2004.

SMITH, S.; MURPHY, R.P. Relationships between inbreeding, meiotic irregularity and fertility in alfalfa. **Can. J. Genet. Cytol.**, 28: 130-137, 1986.

STEBBINS, G.L. **Chromosomal evolution in higher plants**. Addison – Wesley Publ. Company, p.202, 1971.

TAKAHASHI, M. Microsporogenesis in a parthenogenetic species, *Houttuynia cordata* Thumb. (Saururaceae). **Bot. Gaz.**, v. 147, p. 47-54, 1986.

TARA, C.P.; NAMBOODIRI, A.N. Aberrant microsporogenesis and sterility in *Impatiens sultani* (Balsaminaceae). **Am. J. Bot.**, v. 61, p. 585-591, 1974.

VASAL, S.K.; DHILLON, B.S.; SRINIVASAN, G.; MCLEAN, S.D.; ZHANG, S.H. Effect of 53 recurrent selection in four tropical maize populations on their selfed and randomly mated generations. **Crop Sci.**, v. 35, p. 697-702, 1995.

VIANNA, R.T.; GAMA, E.E.G.; NASPOLINI FILHO, V.; MORO, J.R.; VENCOVSKY, R. Inbreeding depression of several introduced populations of maize (*Zea mays* L.). **Maydica**, v. 27, p. 151-157, 1982.

VILLAMIZAR, N.R. **Estudos comparativos da freqüência de quiasmas em microsporócitos em diversas variedades e linhagens autofecundadas de milho (*Zea mays* L.)**. Mestrado – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/USP, 74p., 1976.

ZECEVIC, L.M. Cytogenetic study in inbred lines of maize I. Chiasma frequency of diplotene. **Zborn. Rad. Biol. Inst.**, v. 4, p. 1-32, 1960.

ZECEVIC, L.M. Cytogenetic study in inbred lines of maize II. Chiasma frequency at diakinesis. **Zborn. Rad. Biol. Inst.**, v. 5, p. 1-43, 1962.

ZICKLER, D.; MOREAU, P. J. F.; HUYNH, A. D.; SLEZEC, A. Correlation between pairing initiation sites, recombination nodules and meiotic recombination in *Sordaria macrospora*. **Genetics**, v. 132, p. 135-148, 1992.

ZIEGLER, K. E; ASWMAN, B. Popcorn. In: (ed.) HALLAUER, A.R **Speciality Corns**, Iowa, CRS Press, p. 189-223, 1994.

ZINSLY, J.R.; MACHADO, J.A. **Milho-pipoca**. In: Paterniani, e Viégas, G.P., Melhoramento e produção de milho. 2ª ed., Campinas: Fundação Cargil, v. 2, p. 413-424, 1987.

7. APÊNDICE

Genótipo	Planta	Quiasmas	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆	S ₇
Zélia	01	FQT	389(19,45)	319(15,95)	379(18,95)	358(17,90)	334(16,70)	331(16,55)	320(16,00)	327(16,35)
		FQt	328(16,40)	268(13,40)	329(16,45)	281(14,05)	290(14,50)	287(14,35)	260(13,00)	237(11,85)
		FQi	61(3,65)	51(2,55)	50(2,50)	77(3,85)	44(2,20)	44(2,20)	60(3,00)	90(4,50)
	02	FQT	351(17,55)	314(15,70)	343(17,15)	388(19,40)	357(17,85)	339(16,95)	328(16,40)	303(15,15)
		FQt	296(14,80)	259(12,95)	295(14,75)	313(15,65)	322(16,10)	298(14,90)	262(13,10)	236(11,80)
		FQi	55(3,30)	55(2,75)	48(2,40)	75(3,75)	35(1,75)	41(2,05)	66(3,30)	67(3,35)
	03	FQT	362(18,10)	321(16,05)	356(17,80)	349(17,45)	325(16,25)	334(16,70)	332(16,60)	314(15,70)
		FQt	308(15,40)	274(13,70)	282(14,10)	282(14,10)	282(14,10)	280(14,00)	251(12,55)	147(12,35)
		FQi	54(2,70)	47(2,35)	74(3,70)	67(3,35)	43(2,15)	54(2,70)	81(4,05)	67(3,35)
	04	FQT	372(18,60)	370(18,50)	350(17,50)	387(19,35)	341(17,05)	324(16,20)	328(16,40)	311(15,55)
		FQt	329(16,45)	325(16,25)	270(13,50)	319(15,95)	297(14,85)	281(14,05)	258(12,90)	232(11,60)
		FQi	43(2,35)	45(2,25)	80(4,00)	68(3,40)	44(2,20)	43(2,15)	70(3,50)	79(3,95)
	05	FQT	391(19,75)	335(16,75)	390(19,50)	390(19,50)	356(17,80)	319(15,95)	318(15,90)	314(15,70)
		FQt	340(17,00)	288(14,40)	305(15,25)	335(16,75)	314(15,70)	262(13,10)	250(12,50)	241(12,05)
		FQi	51(2,55)	47(2,35)	85(4,25)	55(2,75)	42(2,10)	57(2,85)	68(3,40)	73(3,65)
	06	FQT	363(18,15)	361(18,05)	359(17,95)	344(17,20)	332(16,60)	342(17,10)	324(16,20)	309(15,45)
		FQt	309(15,45)	320(16,00)	288(14,40)	278(13,90)	285(14,25)	287(14,35)	230(11,50)	231(11,55)
		FQi	54(2,70)	41(2,05)	71(3,55)	66(3,30)	47(2,35)	55(2,75)	94(4,70)	78(3,90)
	07	FQT	388(19,40)	375(18,75)	366(18,30)	332(16,60)	342(17,10)	340(17,00)	327(16,35)	310(15,50)
		FQt	342(17,10)	330(16,5)	286(14,30)	274(13,70)	299(14,95)	273(13,65)	240(12,00)	241(12,05)
		FQi	46(2,30)	45(2,25)	80(4,00)	58(2,90)	43(2,15)	67(3,35)	87(4,35)	69(3,45)
	08	FQT	357(17,85)	352(17,60)	351(17,55)	351(17,55)	331(16,55)	329(16,45)	312(15,60)	304(15,20)
		FQt	308(15,40)	310(15,50)	274(13,70)	299(14,95)	289(14,45)	262(13,10)	233(11,65)	218(10,90)
		FQi	49(2,45)	42(2,10)	77(3,85)	52(2,60)	42(2,10)	67(3,35)	79(3,95)	86(4,30)
	09	FQT	382(19,10)	378(18,90)	360(18,00)	350(17,50)	309(15,45)	330(16,50)	316(15,80)	312(15,60)
		FQt	326(16,30)	331(16,55)	282(14,10)	295(14,75)	259(12,95)	265(13,25)	230(11,50)	239(11,95)
		FQi	56(2,80)	47(2,35)	78(3,90)	55(2,75)	50(2,50)	65(3,25)	86(4,30)	73(3,65)

Tabela 1 Freqüência de quiasma total, quiasmas terminais e quiasmas intersticiais por planta e por geração de autofecundação.

Genótipo	Planta	S₀	S₁	S₂	S₃	S₄	S₅	S₆	S₇
Zélia	01	5	0	0	1	1	5	5	4
	02	1	3	2	0	2	5	5	3
	03	5	1	0	3	2	3	5	4
	04	5	0	1	1	3	2	4	4
	05	0	2	0	1	4	4	3	4
	06	5	0	4	4	4	4	3	4
	07	3	0	4	3	2	10	5	5
	08	2	3	2	3	5	4	4	2
	09	0	0	3	5	6	5	3	6

Tabela 2 Número de células com cromossomos univalentes observados por planta e por geração de autofecundação.

Genótipo	Planta	S ₀	S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆	S ₇
Zélia	01	538 (7) 1,3%	393 (2) 0,5%	449 (4) 0,9%	1112 (157) 14%	706 (10) 1,4%	555 (11) 2,0%	426 (11) 2,6%	403 (7) 1,7%
	02	549 (4) 0,7%	393 (3) 0,8%	433 (17) 3,9%	411 (3) 0,7%	684 (16) 2,3%	556 (15) 2,7%	414 (11) 2,6%	409 (10) 2,4%
	03	562 (7) 1,2%	430 (20) 4,7%	445 (3) 0,7%	440 (7) 1,6%	736 (40) 5,3%	412 (9) 2,3%	409 (12) 2,9%	412 (10) 2,4%
	04	550 (5) 0,9%	1822 (1301) 71%	411 (3) 0,7%	1080 (259) 23,0%	674 (20) 3,0%	408 (5) 1,2%	412 (12) 2,9%	411 (13) 3,1%
	05	551 (1) 0,2%	541 (19) 3,5%	457 (7) 1,5%	513 (11) 0,2%	487 (8) 1,6%	436 (12) 2,7%	413 (10) 2,4%	413 (11) 2,6%
	06	567 (9) 1,6%	413 (3) 0,7%	401 (8) 2,0%	480 (5) 1,0%	502 (26) 5,2%	433 (11) 2,5%	466 (27) 5,8%	410 (9) 2,2%
	07	554 (7) 1,3%	415 (2) 0,5%	407 (5) 1,2%	489 (9) 1,8%	490 (5) 1,0%	1118 (112) 10%	407 (10) 2,4%	420 (12) 2,8%
	08	394 (2) 0,5%	467 (6) 1,5%	405 (9) 2,3%	663 (17) 2,6%	424 (17) 0,4%	438 (17) 3,9%	409 (10) 2,4%	405 (5) 1,2%
	09	402 (4) 1,0%	395 (5) 1,3%	407 (7) 1,7%	713 (10) 1,4%	413 (9) 2,2%	415 (10) 2,4%	411 (9) 2,2%	412 (12) 2,9%

Tabela 3 Número total de células, número e porcentagem de células anormais por planta e por geração de autofecundação.