

ANÁLISE GENÉTICA DE UM CASO DE INSTABILIDADE NO «LOCUS» OPACO-2 EM MILHO (*Zea mays* L.)^{1/}

Alberto José Prioli ^{2/}
Hélio Moraes Barbosa ^{3/}
Renato Sant'Anna ^{3/}
Luiz Sérgio Saraiva ^{3/}

1. INTRODUÇÃO

Os elementos controladores, em milho, são estruturas herdáveis, de ocorrência aparentemente esporádica, que inibem ou modificam, reversivelmente, a atividade gênica, inserindo-se no «locus» ou próximo do «locus» cuja ação eles controlam [9, 10, 11, 12, 13 e McClintock, citada por FINCHAM e SASTRY (5)]. Um elemento controlador inserido num determinado ponto do complemento cromossômico pode sofrer transposição, isto é, excisão, com liberação da atividade gênica e subsequente reintegração em qualquer outro ponto do genoma (10, 11, 12). Há, portanto, uma instabilidade na expressão fenotípica dos genes associados a elementos controladores, com o consequente aparecimento de mosaicismo no tecido.

McCLINTOCK (9, 10, 11, 12, 13) definiu dois sistemas de elementos controladores em milho. O sistema não autônomo possui um elemento denominado operador (13) ou receptor (5), que se aloja num gene, inibindo sua atividade. Noutro ponto

^{1/} Parte da tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, pelo primeiro autor, como uma das exigências para a obtenção do grau de «Magister Scientiae».

Recebido para publicação em 06-05-1980. Projeto n.º 4.1454 do Conselho de Pesquisa da U.F.V.

^{2/} Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá. 87100 Maringá, Paraná.

^{3/} Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa. 36570 Viçosa, MG.

do genoma, no mesmo cromossomo ou não, localiza-se o elemento chamado regulador. O regulador inibe também a atividade gênica e promove, por sinalização ao nível molecular, a transposição do receptor, bem como sua própria transposição. Noutro sistema, o autônomo, apenas um elemento funciona como receptor e regulador. Como existe alta especificidade na relação receptor-regulador, é possível a identificação de classes de elementos controladores. Determinado componente receptor somente responde ao regulador de sua própria classe. Então, o alelo resultante da associação entre um gene e um elemento controlador, com função receptora conhecida, serve como testador de seu regulador.

Os elementos controladores podem passar por alterações reversíveis de estado ou fase, que se refletem em características autocontroladas. McCLINTOCK (9, 10, 11) sugere que o ciclo de «quebra-fusão-ponte» possa ser iniciado pela classe de elementos controladores «Activator-Dissociation» (*Ac-Ds*), resultando em mosaicismo pela perda de genes dominantes em setores do endosperma. Ocorreria quebra do cromossomo durante a excisão do elemento receptor «Dissociation» (*Ds*), como resposta a algum tipo de sinal do regulador «Activador» (*Ac*). A freqüência de quebras que ocorrem durante a excisão pode ser modificada como consequência da alteração de estado do elemento *Ds* (11). Analogamente, *Ac* também pode passar por alterações de estado ou fase (11). A classe de elementos controladores «Suppressor-Mutator» (*Spm*) produz mosaicismo pela repressão e liberação da atividade do gene no qual o elemento receptor reside [(11, 12, 13; McClintock, citada por FINCHAM e SASTRY (5)]. Alterações do estado de *Spm* podem antecipar ou retardar a liberação da atividade gênica (provavelmente por transposição) durante o desenvolvimento da planta (11, 12, 13).

Nos endospermas opaco-2 modificados a distribuição dos setores translúcidos e opacos segue diversos padrões definidos por VASAL (18). A modificação do fenótipo opaco-2 é comum em variedades colombianas (3). Entretanto, LEITE (7) detectou mosaicismo normal/opaco em endospermas de sementes da variedade de milho 'Opaco-2' Colombiano' tratadas com o mutagênico alquilante etil-metanosulfonato (EMS). Esse mosaicismo, aparentemente, é semelhante ao encontrado por LORENZONI *et alii* (8) num híbrido opaco-2. Como, nos mosaicos, a distribuição dos setores translúcidos segue padrões completamente diferentes dos observados em endospermas opaco-2 modificados, pode-se suspeitar de causas genéticas diferentes para as duas ocorrências.

O objetivo deste trabalho foi determinar as causas e o comportamento genético do mosaicismo observado por LEITE (7).

2. MATERIAL E METODOS

LEITE (7) tratou sementes uniformemente opacas (geração de sementes *M*₁), da variedade de milho 'Opaco-2 Colombiano' com o mutagênico alquilante etil-metanossulfonato (EMS) em várias concentrações. Após duas gerações sucessivas de autopolinizações foram obtidas espigas *M*₂ com sementes *M*₃. Seis espigas *M*₂, oriundas de uma semente *M*₁ exposta ao EMS, segregaram sementes com mosaicismo normal/opaco no endosperma. Plantas originárias de sementes mosaicas foram autopolinizadas e cruzadas com linhagens homozigóticas para o alelo *wx*^{m-1} e/ou linhagens homozigóticas para o alelo *wx*^{m-8}, testadores dos elementos controladores *Ac* e *Spm*, respectivamente (10, 11, 15). Além disso, foram efetuados cruzamentos com a linhagem 'L 873', de endosperma normal, e com a linhagem 'L Cip 1196 opaco-2 branco', esta desenvolvida pela SEMENTES AGROCERES S.A., ambas utilizadas como fêmeas nos cruzamentos. Sementes *F*₁, heterozigóticas para *wx*^{m-1} ou *wx*^{m-8}, originaram plantas que foram autopolinizadas. As sementes *F*₂

foram examinadas individualmente, e as suspeitas de mosaicismo normal/waxy» foram testadas com solução de I₂-KI para verificar se o «locus» Wx estava ou não envolvido no mosaicismo. Os setores «waxy» colorem-se de marrom-avermelhado e os não «waxy» de roxo-azulado (16, 19). As sementes translúcidas, produzidas nas espigas que segregaram mosaico, originaram plantas que foram autopolinizadas e cruzadas, como macho, com a linhagem 'L Cip 1196 opaco-2 branco'.

As sementes provenientes de autopolinização e cruzamento com opaco-2 foram classificadas visualmente, quando necessário, quanto ao grau de mosaicismo no endosperma. O mosaicismo inclui desde endospermas opacos com pequenas manchas translúcidas, passando por classes intermediárias, até endospermas translúcidos com pequenas manchas opacas (Figura 1).

As proporções fenotípicas Mosaico + Translúcido: Opaco (Ms + Tr : Op), obtidas da autopolinização de plantas provenientes de sementes M₃ mosaicas ou translúcidas e de cruzamentos dessas plantas com opaco-2, foram testadas pelo teste χ^2 (17).

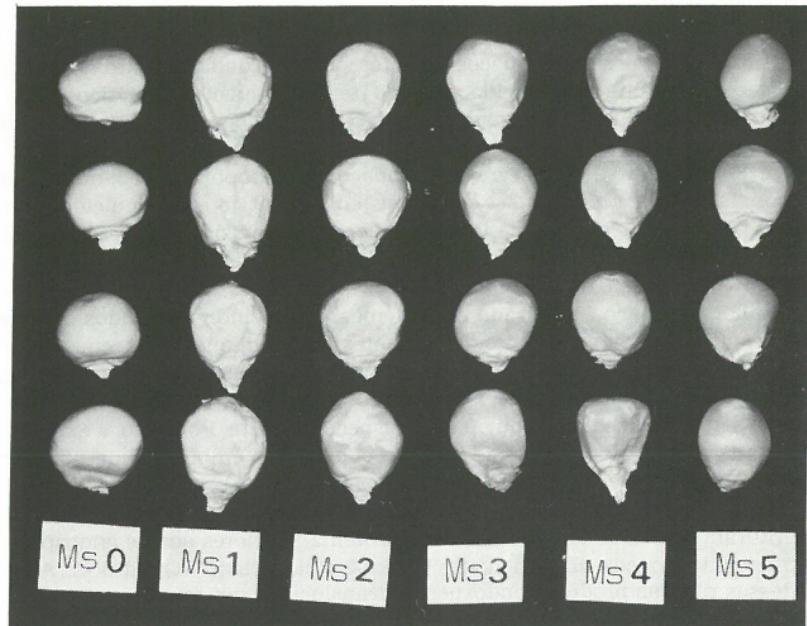


FIGURA 1 - Diferentes graus de mosaicismo normal/opaco no endosperma de milho da variedade 'Opaco-2 Colombiano'. As áreas brancas correspondem aos setores opacos do endosperma. Os símbolos sob cada coluna representam as porcentagens aproximadas de setores translúcidos no endosperma: Ms 0 = 0%, 0% < Ms 1 < 15%; 15% < Ms 2 < 50%; 50% < Ms 3 < 85%; 85% < Ms 4 < 100%; Ms 5 = 100%.

Amostras de endospermas de cada classe fenotípica foram constituídas de sementes de uma ou mais espigas autopolinizadas. Para facilitar a dissecação, as sementes foram embebidas n'água durante um período máximo de duas horas, procedendo-se, então, à separação do germe, com o auxílio de bisturi cirúrgico. Depois disso, as sementes desgerminadas foram secadas em um secador de ventilação forçada. Os teores de proteínas do endosperma com pericarpo foram determinados pelo método semimicro Kjeldahl (2) e os teores de lisina pelo método colorimétrico do TNBS (ácido trinitrobenzeno sulfônico), descrito por ESTEVÃO *et alii* (4).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas 77-1 e 77-2, listadas no Quadro 1, provêm de sementes M_3 translúcidas produzidas numa espiga que não segregou mosaico e descendem de uma semente M_1 não tratada com EMS. Por isso, parece mais plausível supor que os fatores responsáveis pelo mosaicismo estivessem latentes na variedade, manifestando-se independentemente da ação do EMS. Todas as demais plantas originaram-se de sementes M_3 translúcidas produzidas em espigas M_2 que segregaram mosaico e descendem de outra semente M_1 que foi tratada com EMS. Como sementes completamente translúcidas originaram plantas que segregaram mosaico, é possível que a translucidez, nessas sementes, represente um extremo do mosaicismo. A formação de setores opacos pode ter sido retardada, a ponto de o endosperma ser totalmente translúcido, mesmo tendo requisitos genéticos para o mosaicismo. Então, justifica-se o agrupamento de endospermas mosaicos e translúcidos na mesma classe fenotípica. As plantas 98-1, 99-2, 100-1 e 101-2 (Quadro 1) e 1-1, 5-7 e 10-9 (Quadro 2) não segregaram opaco por autopolinização, mas apenas mosaicos. Isso sugere homozigose para o sistema genético que condiciona o mosaicismo. Todavia, as espigas da linhagem opaco-2 polinizadas por essas plantas segregaram endospermas mosaicos e opacos (Quadros 1 e 3). Além disso, as plantas 100-1 (Quadro 1), 1-1 e 7-5 (Quadro 3) foram cruzadas, duas vezes cada uma, com a linhagem opaco-2, utilizada como fêmea, produzindo resultados divergentes. Os resultados, aparentemente discrepantes, sugerem que os extremos do mosaicismo vão desde sementes totalmente opacas até as de fenótipos completamente translúcidos, provavelmente como consequência do retardamento na formação de setores translúcidos ou opacos, respectivamente. Portanto, a expressividade e penetrância do mosaicismo não são constantes, embora ainda não sejam conhecidos os fatores que causam essa variação.

Os endospermas translúcidos, produzidos por cinco plantas do Quadro 1, apresentaram teores de lisina e lisina na proteína inferiores aos de endospermas uniformemente opacos da variedade 'Opaco-2 Colombiano' (Quadro 4). Apenas uma dessas plantas produziu endosperma translúcido com teor de proteína inferior ao do controle. Parece, então, que a translucidez obtida com o sistema genético condicionador do mosaicismo não é promissora para a eliminação dos efeitos adversos do alelo o_2 . Como se pode notar no Quadro 5, os teores de lisina e lisina na proteína diminuem à medida que aumenta a extensão dos setores translúcidos em endospermas mosaicos. O alelo o_2 aumenta o teor de lisina (6, 14) e, de acordo com BARBOSA e GLOVER (1), a maioria dos estudos indica que ele causa uma redução do teor de proteína no endosperma. A tendência ao fenótipo normal e a segregação de mosaicos em cruzamentos com opaco-2 (Quadros 1 e 3) constituem evidências de que o «locus» o_2 está relacionado com o mosaicismo.

Os cruzamentos com a linhagem de endosperma normal produziram apenas

QUADRO 1 - Segregação para endospermas mosaicos, translúcidos e opacos em plantas derivadas de sementes *M₃* translúcidas^{1/}, autofecundadas e cruzadas com fêmeas da linhagem 'L' Cip 1196 opaco-2 branco.

Planta /	Autofecundação			X ²			Cruzamento com Opaco-2			X ² (Esp. 1:3) ^{4/}
	Mosaico	Trans-lúcido	Opaco ^{3/}	(Esp. 3:1) ^{4/}	(Esp. 9:7) ^{4/}	Mosaico	Trans-lúcido	Opaco ^{3/}	(Esp. 1:1) ^{4/}	
(a) 77-1	49	19	4	14,52**	42,68**	91	0	84	0,28n.s.	68,04**
(a) 77-2	14	46	28	2,18n.s.	5,09*	54	5	68	0,64n.s.	31,18**
(b) 91-1	0	0	9	-	-	0	0	160	-	-
(c) 92-1	0	2	311	-	-	0	0	107	-	-
(c) 92-2	0	2	4	-	-	61	0	46	2,10n.s.	58,47**
(c) 92-3	140	27	14	28,78**	95,40**	27	0	102	43,60**	1,14n.s.
(c) 92-4	90	42	4	35,30**	92,03**	28	0	51	6,70**	4,60*
(d) 94-2	-	-	-	-	-	8	0	38	19,57**	1,42n.s.
(e) 96-1	16	41	18	0,04n.s.	38,01**	17	87	40	28,44**	171,26**
(f) 98-1	179	4	0	-	-	46	1	42	0,28n.s.	36,71**
(f) 99-1	242	8	0	-	-	36	4	155	6,78**	2,10n.s.
(g) 100-1	82	1	0	-	-	93	2	104	0,41n.s.	54,88**
(g) 100-2	-	-	-	-	-	34	0	83	20,52**	1,03n.s.
(g) 101-1	270	4	0	-	-	10	1	51	25,80**	1,74n.s.
(g) 101-2	363	7	0	-	-	-	-	-	-	-
(g) 101-4	61	144	52	3,12n.s.	57,75**	65	5	67	0,07n.s.	49,75**

1/ Sementes translúcidas (*M₃* 5), produzidas em espigas *M₂* que segregaram endospermas mosaicos, à exceção da espiga que originou as plantas 77-1 e 77-2.

2/ As plantas precedidas da mesma letra são provenientes da mesma espiga *M₂* e todas descendem da mesma semente *M₁* que foi tratada com EMS, à exceção das plantas 77-1 e 77-2, que descendem de outra semente *M₁*, que serviu de testemunha.

3/ Inclui os endospermas com fenótipo opaco-2 modificado.

4/ Calculado para a proporção Mosaico + Translúcido:opaco.

* e ** Indicam diferença significativa, respectivamente, aos níveis de 5 e 1% de probabilidade, pelo teste X².
n.s. Indica diferença não significativa.

QUADRO 2 - Segregação para endospermas mosaicos, translúcidos e opacos em plantas autofecundantes oriundas de semente M_3 mosaicas

Planta ^{1/}	Mosaico	Translúcido	Opaco ^{2/}	χ^2	
				(Esp. 3:1) ^{3/}	(Esp. 9:7) ^{3/}
(a) 1-1	143	0	0	-	-
(a) 2-4	257	1	45	16,64**	102,82**
(b) 3-4	176	24	7	51,60**	137,07**
(b) 4-1	91	3	46	4,61*	6,75**
(b) 4-2	95	7	3	27,46**	71,35**
(b) 4-5	12	0	17	17,47**	2,61n.s.
(b) 5-3	225	12	5	67,88**	170,86**
(b) 5-7	209	16	0	-	-
(c) 6-2	23	0	3	2,61n.s.	10,95**
(c) 6-3	296	2	6	85,97**	215,59**
(c) 6-4	15	0	4	0,16n.s.	4,29*
(c) 7-4	33	0	44	42,43**	5,61*
(c) 7-5	293	0	51	18,99**	116,95**
(c) 7-6	65	0	45	14,85**	0,36n.s.
(c) 8-1	129	0	43	0,00n.s.	24,57**
(c) 8-4	2	0	11	24,64**	8,82**
(c) 8-9	22	0	33	35,93**	5,90*
(c) 9-8	65	0	106	124,77**	23,11**
(c) 9-9	14	0	46	85,42**	26,42**
(d) 10-1	104	1	3	28,44**	73,67**
(d) 10-2	124	0	11	20,45**	69,53**
(d) 10-3	166	0	14	28,48**	94,65**
(d) 10-9	126	2	0	-	-
(d) 11-3	163	1	10	34,40**	102,11**
(d) 11-5	34	0	3	5,63*	19,10**
(d) 12-1	98	7	18,82**	58,67**	

continua

QUADRO 2 - Continuação

Planta 1/	Mosaico	Translúcido	Opaco 2/	X ²	
				(Esp.3:1) ³	(Esp.9:7) ³ /
(d) 12-4	136	0	17	15,74**	66,23**
(d) 12-6	48	0	7	4,42*	21,51**
(d) 12-8	115	5	2	35,51**	87,91**
(d) 12-9	132	0	10	24,42**	77,75**
(d) 12-10	150	0	6	37,23**	100,94**
(e) 13-4	58	0	51	27,60**	0,41n.s.
(e) 13-5	177	2	3	52,93**	73,74**
(e) 13-6	120	0	4	31,36**	82,75**
(e) 13-7	54	3	2	14,70**	39,05**
(e) 14-3	15	0	19	17,30**	2,03n.s.
(e) 14-8	41	0	4	6,23*	22,22**
(e) 14-10	82	0	17	3,24n.s.	28,42**
(f) 15-2	32	0	30	18,09**	0,54n.s.
(f) 15-5	35	2	1	10,14**	21,12**
(f) 16-5	60	4	11	4,27*	25,78**
(f) 16-9	154	1	3	44,97**	112,45**

1/ Todas as plantas descendem de uma semente M₁ apenas, e as precedidas da mesma letra são provenientes da mesma espiga M₂.

2/ Inclui os endospermas com fenótipo opaco-2 modificado.

3/ Calculado para a proporção Mosaico + Translúcido:Opaco.

* e ** Indicam diferença significativa, respectivamente, aos níveis de 5 e 1% de probabilidade, pelo teste X₂.

n.s. Indica diferença não significativa.

QUADRO 3 - Segregação para endospermas mosaicos, translúcidos e opacos em espigas 'L Cip 1196 opaco-2 branco', polinizadas por plantas originárias de sementes M₃ com endosperma mosaico

Cruzamento	φ	σ^2	Mosaico	Translúcido	Opaco	χ^2	
						(Esp. 1:1) 2/	(Esp. 1:3) 2/
67-2/ 1-1			7	0	13	1,80n.s.	1,07n.s.
67-5/ 1-1			9	0	59	36,77**	5,02*
68-2/ 1-3			6	0	3	1,0n.s.	8,33**
177-5/ 1-4			167	9	0	-	-
67-6/ 2-4			15	0	151	111,42**	22,56**
68-3/ 5-7			15	2	5	6,55*	8,02**
69-4/ 6-3			35	0	9	15,36**	69,82**
67-4/ 6-4			5	0	16	10,12**	1,51n.s.
170-2/ 7-5			120	2	1	119,03**	361,04**
185-1/ 7-5			44	0	23	6,58*	59,11**
189-2/ 8-4			42	0	61	3,51n.s.	13,67**
69-2/ 8-7			0	0	38	-	-
181-7/ 9-7			6	0	6	0,00n.s.	4,00*
116-7/10-8			10	1	37	14,08**	0,11n.s.
168-1/10-9			38	5	141	52,20**	0,26n.s.

1/ Inclui os endospermas com fenótipo opaco-2 modificado.

2/ Calculado para a proporção Mosaico + Translúcido:Opaco

*; ** Indicam diferença significativa, respectivamente, aos níveis de 5 e 1% de probabilidade, pelo teste χ^2 .

n.s. Indica diferença não significativa

QUADRO 4 - Teores de lisina (L), proteína (P) e lisina na proteína (L/P) em endospermas translúcidos^{1/}, produzidos em espigas de plantas M₃ autopolinizadas que segregaram mosaico

Planta	% L	% P	% L/P
77-1	0,133	9,09	1,46
77-2	0,136	11,45	1,19
92-3	0,140	7,63	1,83
92-4	0,128	7,89	1,62
96-1	0,125	8,63	1,45
Opaco-2 ^{2/}	\bar{x} 0,237	7,78	3,09
	s $\pm 0,033$	$\pm 1,44$	$\pm 0,70$

1/ Endospermas completamente translúcidos, correspondentes à classe fenotípica Ms 5.

2/ Controle constituído pelas médias das médias de amostras de endospermas opaco-2 de plantas da variedade 'Opaco-2 Colombiano'.

grãos translúcidos. Desde que o «locus» *o2* está relacionado com o mosaicismo, esse resultado seria esperado, pois o alelo normal *O2* não está sujeito à instabilidade. Assim, o heterozigoto deve exibir fenótipo normal.

A existência de endospermas com manchas translúcidas, sobre tecido opaco, inviabiliza qualquer hipótese explicativa do mosaicismo que admite inibidor do alelo *o2* com atividade estável. Elementos controladores podem ser responsáveis pelo mosaicismo detectado por LEITE (7). Entretanto, os testes com os alelos *wxm-1* e *wxm-8*, testadores de *Ac* e *Spm*, respectivamente (10, 11, 15), foram negativos. Nenhum dos endospermas de sementes F₂, nos dois testes, apresentou mosaicismo normal/«waxy». Similarmente, os elementos controladores *Ac* e *Spm* não estão relacionados com o mosaicismo estudado por LORENZONI *et alii* (8).

Por outro lado, pode-se postular que elementos controladores desconhecidos estão presentes na variedade 'Opaco-2 Colombiano'. Para um sistema autônomo, o elemento controlador estaria associado ao alelo normal *O2*, resultando num alelo mutável ou instável (*o2^m*). Nesse caso, as segregações Ms + Tr: Op seriam esperadas nas proporções 3:1 e 1:1, respectivamente, em autopolinizações e cruzamentos com opaco-2 de plantas heterozigóticas (*o2/o2^m*). Para o sistema não autônomo, as proporções esperadas, para o caso de independência entre o alelo *o2* instável e o elemento regulador, seriam 9:7 e 1:3, respectivamente, em cruzamentos com opaco-2 e autopolinizações de plantas heterozigóticas para o alelo opaco-2 instável e para o regulador. Plantas homozigóticas para os elementos controladores deveriam produzir apenas sementes mosaicas, tanto em autopolinizações quanto em cruzamentos com opaco-2, pois, quando o alelo *o2^m* tivesse sua atividade liberada, o alelo normal resultante seria dominante sobre o alelo *o2* padrão. Embora os resultados, de modo geral, não estejam de acordo, estatisticamente, com as proporções esperadas para sistema autônomo ou de dois elementos, deve-se considerar que a instabilidade na expressão fenotípica, que leva, inclusive, aos extremos do mosaicismo, dificulta a análise estatística baseada em proporções esperadas. Além disso, para o sistema não autônomo, não se poderiam calcular as proporções esperadas se houvesse ligação entre o elemento regulador e o «locus»

QUADRO 5 - Médias das médias dos teores de lisina (L), proteína (P) e lisina na proteína (L/P) em várias classes de endospermas mosaicos

Grau de Mosaicismo do Endosperma						
	Ms 0 ^{1/}	Ms 1	Ms 2	Ms 3	Ms 4	Ms 5
º L	0,237	0,146	0,131	0,126	0,125	0,124
± S	± 0,033	± 0,009	± 0,004	± 0,004	± 0,002	± 0,006
º P	7,78	8,29	9,65	9,31	9,47	9,83
± S	± 1,44	± 1,12	± 0,39	± 0,70	± 1,03	± 0,61
º L/P	3,09	1,78	1,36	1,35	1,34	1,26
± S	± 0,70	± 0,27	± 0,10	± 0,10	± 0,15	± 0,09

1/ Classificação visual do grau de mosaicismo (vide Figura 1):

Ms0 = 0%, 0% < Ms1 ≤ 15%; 15% < Ms2 ≤ 50%; 50% < Ms3 ≤ 85%; 85% < Ms4 < 100%; Ms5 = 100%

o₂ afetado, uma vez que não se conhece a distância entre eles. Por outro lado, as indicações de que a expressividade e a penetrância do mosaicismo são inconsistentes sugerem, fortemente, o envolvimento de elementos controladores no mosaicismo.

As plantas 91-1 e 92-1 (Quadro 1) são provenientes de sementes completamente translúcidas produzidas em espigas que segregaram mosaico. No entanto, essas plantas não segregaram mosaico por autopolinização, nem em cruzamentos com opaco-2, mas produziram opaco modificado. Alterações de estado ou fase, como as que ocorrem com os elementos *Ac-Ds* e *Spm* (9, 10, 11, 12, 13), poderiam explicar a estabilização do fenótipo opaco.

4. RESUMO

Em experimento anterior, sementes de milho da variedade 'Opaco-2 Colombiano', uniformemente opacas, foram tratadas com o mutagênio alquilante etil-metossulfonato (EMS). Na geração de sementes M₃, manifestou-se um mosaicismo normal/opaco no endosperma de algumas sementes. Neste trabalho, objetivou-se a determinação das causas e do comportamento genético desse mosaicismo.

O mosaicismo manifestou-se independentemente da ação do EMS. O sistema genético condicionador do mosaicismo pode estar presente em endospermas completamente translúcidos ou uniformemente opacos. O envolvimento do «locus» *o₂* foi evidenciado pela produção de mosaicos em cruzamentos de plantas originárias de sementes M₃ mosaicas com plantas opaco-2. Outra evidência foi a tendência ao fenótipo normal dos valores de lisina, proteína e lisina na proteína, à medida que aumentou a extensão dos setores translúcidos no endosperma. Os resultados indicam que a expressividade e a penetrância do mosaicismo sofrem variações. Os testes para atividade dos elementos controladores *Ac* e *Spm* com os alelos testadores *wxm-1* e *wxm-8*, respectivamente, foram negativos. Foi sugerido que elementos controladores desconhecidos são responsáveis pelo mosaicismo, mas não foi possível determinar se pertencem ao sistema autônomo ou ao sistema de dois elementos.

5. SUMMARY

In a previous experiment, seeds of the opaque-2 maize variety «Opaco-2 Colombiano» were treated with the mutagenic agent ethyl methanesulfonate (EMS). In the M₃ seed generation a normal/opaque mosaicism occurred in the endosperm of some seeds. The objective of the present work was to determine the cause and genetic behavior of this mosaicism.

The occurrence of the mosaicism was independent of the mutagenic EMS. The genetic system responsible for it may be present in completely vitreous or opaque endosperms. The action of the *opaque-2* locus was evidenced by the production of mosaic endosperm seeds upon crossings between plants derived from M₃ mosaic seeds with plants derived from opaque-2 seeds. Another evidence was the tendency toward the normal values for lysine, protein and lysine as percent of protein, as the vitreous areas of the endosperm increased. The results indicate that the expressivity and penetrance of the mosaicism vary. Tests for the activity of the controlling elements *Ac* and *Spm* were negative. It is suggested that unknown controlling elements are responsible for the mosaicism, but it was not possible to determine whether they belong to the autonomous or to the two-element system.

6. LITERATURA CITADA

1. BARBOSA, H.M. & GLOVER, D.V. Gene and gene interactions affecting protein and lysine content in the endosperm of maize. *Rev. Brasil. Genet.* 1:29-39. 1978.
2. BREMER, J.M. Total nitrogen. In BLACK, C.A. ed. *Methods of soil analysis*. Madison, American Society of Agronomy, 1965. Part 2, p. 1149-1178.
3. D'CROZ, N.E. & CRANE, P.L. Colombian maize germplasm as sources of modifier genes of opaque-2. *Crop Sci.* 15:679-681. 1975.
4. ESTEVÃO, M.M., SANT'ANNA, R., OLIVEIRA, L.M. & ALMEIDA F.º, J. Estabelecimento de um método colorimétrico rápido para avaliação de lisina em milho. *Experientiae* 8:195-213. 1976.
5. FINCHAM, J.R.S. & SASTRY, G.R.K. Controlling elements in maize. *Ann. Rev. Genet.* 8:15-50. 1974.
6. JIMÉNEZ, J.R. Protein fractionation studies of high lysine corn. In: *High Lysine Corn Conference*, Washington, 1966. Proceedings, Washington, Corn Refiners Association, 1966, p. 74-79.
7. LEITE, A.C.S. Indução de mutação em milho (*Zea mays* L.) opaco-2. U.F.V., Viçosa, 1979. 44 p. (Tese Mestrado).
8. LORENZONI, C., MAGGIORE, T. & SALAMINI, F. A case of genetic instability at the opaque-2 locus. *Maize Genet. Coop. News Lett.* 49:91-93. 1975.
9. McCLINTOCK, B. The origin and behavior of mutable loci in maize. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 36:344-355. 1950.
10. McCLINTOCK, B. Chromosome organization and genic expression. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 16:13-14. 1951.
11. McCLINTOCK, B. Controlling elements and the gene. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 21:197-216. 1956.
12. McCLINTOCK, B. Intranuclear systems controlling gene action and mutation. *Brookhaven Symp. Biol.* 8:58-74. 1956.
13. McCLINTOCK, B. Some parallels between gene control systems in maize and in bacteria. *Am. Natur.* 95:265-277. 1961.
14. MERTZ, E.T., BATES, L.S. & NELSON, O.E. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science* 145:279-280. 1974.
15. NELSON, O.E. The *waxy* locus in maize. II. The location of the controlling elements alleles. *Genetics* 60:475-491. 1968.

16. SPRAGUE, G.F., BRIMHALL, B. & HIXON, R.H. Some effects of the waxy gene in corn on properties of the endosperm starch. *J. Am. Soc. Agron.* 35:817-822. 1943.
17. STRICKBERGER, M.W. Genetics. 2.^a ed. New York. Macmillan Publishing Co., Inc., 1976. 914 p.
18. VASAL, S.K. Use of genetic modifiers to obtain normal-type kernels with the opaque-2 gene. In: *High-quality protein maize*. Dowden, Hutchinson & Ross, 1975. p. 197-216.
19. WEATHERWAX, P. A rare carbohydrate in maize. *Genetics* 7:568-572. 1922.