

PERCENTAGEM DE RECOMBINAÇÃO ENTRE OS GENES *C* E *Wx*, EM MILHO (*Zea mays* L.), SOB A INFLUÊNCIA DO SEXO, CROMOSSOMO B, KNOB E CROMOSSOMO 10 ANORMAL ^{1/}

Dário Ahnert ^{2/}
Luiz Sérgio Saraiva ^{3/}

1. INTRODUÇÃO

Em milho, blocos de heterocromatina são encontrados em diferentes regiões dos cromossomos: adjacentes ao centrômero (heterocromatina cêntrica), na região organizadora do nucléolo (heterocromatina do NOR) e em 23 sítios diferentes (knobs heterocromáticos). A heterocromatina é, também, o maior componente do cromossomo supernumerário, ou B, encontrado em algumas raças de milho (3).

Os elementos heterocromáticos, em milho, são responsáveis por (ou participam de) uma série de efeitos citogenéticos não usuais. O cromossomo 10 anormal (K10), que apresenta um segmento extra de heterocromatina na parte distal do braço longo, está envolvido nos processos de segregação preferencial durante a megasporogênese (4), na formação de neocentrômero (6) e no aumento da percentagem de recombinação em regiões de heterocromatina centromérica (1). Para as aberrações cromossômicas estruturais heterozígotas, o aumento na frequência de recombinações ocorre em segmentos cromossômicos eucromáticos.

O cromossomo B, altamente heterocromático, na segunda divisão pós-meiótica da microsporogênese, sofre não-disjunção e interage com os knobs, provocando replicação tardia destes e causando o fenômeno de quebra cromossômica (7, 8).

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

Aceito para publicação em 20.09.1988.

^{2/} CEPLAC/DEPEA, Departamento Especial da Amazônia. 66030 Belém, PA.

^{3/} Departamento de Biologia Geral da UFMG. 36570 Viçosa, MG. Bolsista do CNPq.

Além disso, é responsável pela mudança na distribuição da frequência de «crossing over» ao longo dos cromossomos, ocasionando seu aumento maior na região da heterocromatina cêntrica (2, 7).

NEL (2) e RHOADES (5) observaram diferenças na percentagem de recombinação entre os sexos, na presença do cromossomo B e knob, com e sem K10, tanto para o progenitor masculino quanto para o feminino, verificando aumento maior na inflorescência masculina.

Tendo em vista a diversidade de tipos de heterocromatina encontrados em milho e o relativamente pequeno conhecimento de seus efeitos, torna-se importante a condução de novas pesquisas, visando a elucidar as implicações e interações dos diversos elementos heterocromáticos.

Este trabalho teve o objetivo de estudar o efeito causado pelo cromossomo B, knob, sexo e cromossomo 10 anormal sobre a percentagem de recombinação entre os genes C e Wx, no cromossomo 9 de milho.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A percentagem de recombinação entre C e Wx foi determinada, para microsporangiose e megasporangiose, em plantas com knob, no cromossomo 9, de tamanho relativo grande (K^L) e pequeno (K^S), na presença (K10) e ausência (N10) do cromossomo 10 anormal e com número diferente de cromossomos B.

Foram cruzadas plantas de constituição $\frac{K^L C Wx}{K^L C Wx} + N10/N10 + B's$ com plantas $\frac{k C Wx}{k C Wx} + K10/K10$, obtendo-se plantas heterozigotas para o knob, de tamanho grande/sem knob (K^L/k), e para o cromossomo 10 (K10/N10), e com B's. Essas

plantas foram cruzadas com plantas de constituição $\frac{K^S c Wx}{wd^* c Wx} + N10/N10$, provenientes do cruzamento entre $\frac{K^S c Wx}{K^S c Wx} + N10/N10$ e $\frac{wd c Wx}{wd c Wx} + N10/N10 +$ cro-

mossomo em anel. As plantas resultantes, heterozigotas para constituição de knob e para os genes ligados C/c e Wx/wx, segregaram para presença ou ausência do cromossomo K10 e para números diferentes de cromossomos B. Essas plantas foram cruzadas, como progenitor masculino e feminino, em cruzamentos recíprocos, efetuados aos pares, com plantas testadoras recessivas, c-wx, visando à determinação da percentagem de recombinação entre os genes C e Wx, através da classificação dos tipos de sementes, com relação às duas características analisadas.

Foram utilizadas somente as espigas que tinham os pares provenientes do cruzamento recíproco, para estudar a diferença entre os sexos, com relação à percentagem de recombinação. De cada espiga, foram contadas as sementes coloridas (C) e com aleurona sem pigmentação (c). Posteriormente, essas sementes receberam um pequeno corte, com gilete, no topo do endosperma, para serem coradas com I₂-KI, visando determinar o tipo de endosperma: se amiláceo (Wx), produziria cor azul, se cera (wx), a coloração seria vermelha.

*wd — Deficiência terminal no cromossomo 9, que produz plântula branca, condição letal.

Para identificar a constituição do knob e a presença ou ausência dos cromossomos 10 e B, procedeu-se à análise citológica das inflorescências masculinas, pela técnica do esmagamento, realizando observações na meiose, na fase paquitenio.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados referentes ao efeito do número de cromossomos B sobre a percentagem de recombinação entre os genes *C* e *Wx*, na inflorescência masculina e feminina de plantas com knob de constituição *K^S/k*, no cromossomo 9, encontram-se no Quadro 1. Para knob *K^S/k*, foram encontradas plantas com zero, um e dois cromossomos B. De dez plantas analisadas, três não apresentavam cromossomo B, duas tinham um cromossomo B e cinco tinham dois cromossomos B.

QUADRO 1 — Influência do número de cromossomos B sobre a percentagem de recombinação entre os genes *C* e *Wx*, na inflorescência masculina e feminina, em plantas de constituição *K^S/k*.

N.º de B's	N.º de plantas e de espigas	% de recombinação C-Wx		Diferença ♂-♀	N.º de sementes quando C wx/c Wx foi usado como	
		♂	♀		♂	♀
0	3	38,82	27,44	11,38	703	507
1	2	31,96	34,42	-2,46	466	479
2	5	36,34	33,26	3,08	1.135	1.271

Na ausência do cromossomo B (zero B), a percentagem de recombinação foi maior na parte masculina da planta. Na presença do cromossomo B, a diferença entre os sexos (% de recombinação na parte masculina — % na parte feminina) foi reduzida. Com um cromossomo B, a diferença na percentagem de recombinação foi de 2,46%, a favor do progenitor feminino; com dois cromossomos B, a diferença foi de 3,08%, mas o progenitor masculino apresentou percentagem maior.

RHOADES (5), interpretando dados de Kikudome sobre percentagem de recombinação entre os sexos, nas regiões *Yg2 - Sh* e *Bz - Wx*, do braço curto do cromossomo 9, em plantas de constituição *KL/K^S*, com número de cromossomos B variando de zero a cinco, também encontrou resultados concordantes com os deste trabalho. NEL (2) observou aumento na frequência de «crossing over» na região *Wx - Gl* do cromossomo 9, adjacente ao centrômero, em plantas de constituição *k/k*, na presença de até quatro cromossomos B, tendo o aumento maior sido verificado na inflorescência masculina. Contudo, nas regiões distais do cromossomo 9, *C - Sh* e *Sh - Wx*, o pesquisador observou que os cromossomos B tiveram pequeno efeito sobre a percentagem de recombinação entre os genes *Sh* e *Wx*, aumentando-a na inflorescência feminina, mas não a influenciaram na região *C - Sh*. Portanto, aumento significativo na percentagem de recombinação, no cromossomo 9, provocado pela presença do cromossomo B, foi restrito à região *Wx - Gl*, na heterocromatina cêntrica. Por outro lado, na região eucromática *C - Wx*, estudada neste trabalho, os cromossomos B afetaram a percentagem de recombinação, aumentando-a na inflorescência feminina. Esse resultado, discordante do de NEL (2), po-

de ter sido devido ao fato de as plantas usadas terem sido heterozigotas para o knob (KS/k), ao passo que Nel utilizou plantas sem knob (k/k).

O efeito do knob de tamanho relativo grande (KL) e pequeno (KS) sobre a percentagem de recombinação entre os genes C e Wx , na inflorescência masculina e feminina, pode ser observado no Quadro 2. Para ambas as constituições de knob, KL/wd e KS/k , a percentagem de recombinação foi maior na parte masculina da planta. Para a constituição KL/wd , foi obtido apenas um par de espigas, no qual a percentagem de recombinação foi de 28,32% na parte masculina e de 24,72% na parte feminina. A diferença de 3,60%, em favor da inflorescência masculina, não pode ser tomada como dado definitivo, pois, embora 25 plantas tenham sido analisadas citologicamente, para determinar-lhes a constituição heterocromática ($K10$, cromossomo B , KL , KS), apenas uma delas apresentava a constituição KL/wd , sem o cromossomo B e sem o cromossomo 10 anormal.

QUADRO 2 — Influência do knob de tamanho relativo grande (KL) e pequeno (KS) sobre a percentagem de recombinação entre os genes C e Wx , na inflorescência masculina e feminina, em plantas de constituição KL/wd e KS/k .

Constituição do knob	N.º de plantas e de espigas	% de recombinação $C-Wx$		Diferença $\delta-\varphi$	N.º de sementes quando $C\ wx/c\ Wx$ foi usado como	
		δ	φ		δ	φ
KL/wd	1	28,32	24,72	3,60	140	138
KS/k	3	38,82	27,44	11,38	507	703

Para a constituição KS/k , foram usadas três espigas, que mostraram, consistentemente, maior percentagem de recombinação na parte masculina.

Resultados ainda mais contrastantes foram obtidos por RHOADES (5), estudando a percentagem de recombinação entre C e Wx , em plantas KL/wd . A média de 12 cruzamentos mostrou 25,48% de recombinação na parte masculina da planta e apenas 9,22% na inflorescência feminina. Para plantas sem knob, homozigotas para a pequena deficiência $wd(wd/wd)$, a percentagem de recombinação dos dois sexos foi praticamente a mesma, sem diferença significativa.

Neste trabalho, entre as plantas analisadas citologicamente, apesar de esperadas, não foram encontradas plantas sem knob, de constituição k/wd , que seriam utilizadas como testemunhas, para analisar melhor o efeito do knob sobre a percentagem de recombinação na inflorescência masculina e feminina, na região $C-Wx$.

Conforme pode ser observado no Quadro 3, o $K10$ induziu aumento na frequência de recombinação, tanto na parte masculina quanto na feminina, embora o aumento tenha sido bem maior na inflorescência feminina. É possível que o menor aumento verificado na parte masculina tenha sido devido ao fato de a taxa de «crossing over» já ter atingido nível próximo ao limite máximo, na ausência do $K10$. Como consequência da indução de maior aumento na percentagem de recombinação na parte feminina, a presença do $K10$ levou a uma redução na dife-

rença entre os sexos. Na ausência do K10 (N10/N10), a diferença entre os sexos foi de 11,38%, ao passo que, na sua presença, o valor foi reduzido para 5,42%. Efeito do K10 sobre a recombinação foi também observado por KIKUDOME (1), que encontrou 30% de aumento na região Wd - Wx, na inflorescência feminina, em plantas de constituição K^S/k, K^M/k e K^L/k. O K10 também foi responsável pelo aumento na frequência de «crossing over» em regiões de heterocromatina cêntrica, para o cromossomo 5 e, em menor grau, para o cromossomo 9(2), e em regiões eucromáticas adjacentes a aberrações cromossômicas estruturais heterozigotas, na inflorescência masculina e feminina (6). Por outro lado, na região eucromática C - Wx, o efeito do cromossomo K10 sobre a recombinação ainda não tinha sido estudado.

QUADRO 3 — Influência do cromossomo 10 anormal (K10) sobre a percentagem de recombinação entre os genes C e Wx, na inflorescência masculina e feminina, em plantas de constituição K^S/k.

Constituição de cromossomo 10	N.º de plantas e de espigas	% de recombinação C-Wx		Diferença ♂-♀	N.º de sementes quando C wx/c Wx foi usado como	
		♂	♀		♂	♀
N10/N10	3	38,82	27,44	11,38	507	703
K10/N10	5	41,24	35,82	5,42	858	1.486

O Quadro 4 mostra o efeito do cromossomo B, em interação com o cromossomo 10 anormal, sobre a percentagem de recombinação entre os genes C e Wx na inflorescência masculina e feminina, na região C - Wx, de plantas K^S/k. Na ausência do cromossomo B, a percentagem de recombinação foi maior na parte masculina (41,24%). Na presença de um ou dois cromossomos B, a percentagem de recombinação foi a mesma, em macho e fêmea.

QUADRO 4 — Influência do número de cromossomos B, na presença do cromossomo 10 anormal (K10), sobre a percentagem de recombinação entre os genes C e Wx, na inflorescência masculina e feminina, em plantas de constituição K^S/k.

N.º de B's	N.º de plantas e de espigas	% de recombinação C - Wx		Diferença ♂ - ♀	N.º de sementes quando C wx/ c Wx foi usado como	
		♂	♀		♂	♀
0	5	41,24	35,82	5,42	858	1486
1	2	28,12	28,12	0	566	730
2	6	35,32	35,26	0,06	1288	1872

A interação dos vários elementos heterocromáticos, atuando diferentemente, alguns antagonicamente, leva a um equilíbrio tal, que, na presença simultânea de knob (KS), cromossomo B e cromossomo K10, a percentagem de recombinação entre C e Wx na inflorescência masculina e feminina é idêntica, não havendo, conseqüentemente, diferença entre os sexos. Pelos dados obtidos, pode-se concluir que o knob (KS) atua, produzindo diferença entre os sexos (Quadro 4), através da maior percentagem de recombinação na microsporogênese, em relação à megasporogênese. Por outro lado, o cromossomo B ou o cromossomo K10, isoladamente, ocasionam aumento na percentagem de recombinação na parte feminina, levando à redução da diferença entre os sexos. A presença simultânea dos cromossomos B e K10, somando seus efeitos, faz com que a diferença entre os sexos torne-se nula, devido à igualdade dos valores das taxas de recombinação na inflorescência masculina e feminina da planta.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Através de cruzamentos apropriados, foi avaliada a percentagem de recombinação, na região C - Wx, do cromossomo 9 de milho, durante microsporogênese e megasporogênese, afetada pelos elementos heterocromáticos: cromossomo B, knob e cromossomo 10 anormal.

A percentagem de recombinação, na região C - Wx, do cromossomo 9, heterozigoto para o knob de tamanho pequeno/sem knob (KS/k), na ausência do cromossomo B, foi maior na parte masculina (38,82%) da planta. Na presença de um cromossomo B, a diferença foi reduzida para 2,41%, a favor do progenitor feminino, enquanto com dois cromossomos B a diferença foi de 3,08%, a favor do progenitor masculino. Desse modo, os cromossomos B reduzem a diferença de recombinação entre os sexos, produzida pelo knob heterozigoto.

O knob de tamanho relativo grande (K^L) também influenciou diferencialmente os sexos, com relação à percentagem de recombinação entre C e Wx. No entanto, foi obtida apenas uma planta de constituição K^L/wd, com diferença, na percentagem de recombinação, de 3,60% a favor da inflorescência masculina.

A presença do cromossomo 10 anormal (K10) ocasionou aumentos na percentagem de recombinação na região C-Wx, tanto para a inflorescência masculina quanto para a feminina, verificando-se aumento maior na parte feminina, o que reduziu a diferença entre os sexos.

A interação do knob heterocromático com a heterocromatina encontrada nos cromossomos B e K10, presentes, simultaneamente, na mesma planta, causou um equilíbrio tal, que a percentagem de recombinação entre C e Wx, na inflorescência masculina e feminina, foi idêntica.

Conseqüentemente, o efeito do knob sobre a percentagem de recombinação é antagonico ao dos cromossomos B e K10, pois, enquanto o knob induz diferença entre os sexos, através da redução da percentagem de recombinação na inflorescência feminina, os cromossomos B e K10 induzem aumento na percentagem de recombinação na parte feminina.

5. SUMMARY

(PERCENTAGE OF RECOMBINATION BETWEEN C AND Wx GENES IN MAIZE (*Zea mays* L.) AS AFFECTED BY SEX, KNOB, B CHROMOSOME AND ABNORMAL CHROMOSOME 10)

Recombination was studied between C and Wx genes in the short arm of

chromosome 9 of maize (*Zea mays* L.) in megasporocytes and microsporocytes as influenced by heterochromatic elements: knob, B chromosome and abnormal chromosome 10 (K10). Percentage of recombination for plant heterozygous for knob/knobless in the male meiocytes (38.82%) was greater than in the female (27.44%). The sex difference in recombination produced by knob was drastically reduced in the presence of one or two B chromosome. K 10 induced increases in recombination for male and female inflorescences. The increase was higher in female than in male meiocytes and consequently reduced the sex differential caused by knob heterochromatic. The interaction of heterochromatic elements, knob, B chromosome and K10, present in the same plant, established an equilibrium and the percentage of recombination between C and Wx, was the same in male and female flowers. Thus the effect of knob in recombination is antagonistic to the effect of B chromosome and K10, knob inducing a sex differential through a reduction in recombination in female meiocytes while B chromosome and K10 cause an increase in female flowers.

6. LITERATURA CITADA

1. KIKUDOME, G.Y. Studies on the phenomenon of preferential segregation in maize. *Genetics*, 44:815-831, 1959.
2. NEL, P.M. The modification of crossing over in maize by extraneous chromosomal elements. *Theor. Appl. Genet.* 43:196-202, 1973.
3. PEACOCK, W.J.; DENNIS, E.S.; RHOADES, M.M. & PRYOR, A.J. Highly repeated DNA sequence limited to knob heterochromatin in maize. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 78:4490-4494, 1981.
4. RHOADES, M.M. Preferential segregation in maize. *Genetics*, 27:395-406, 1942.
5. RHOADES, M.M. Genetic effects of heterochromatin in maize. In: Walden, D.B. (ed.). *Maize Breeding and Genetics*. New York, John Wiley and Sons, 1978. p. 641-671.
6. RHOADES, M.M. & DEMPSEY, E. The effect of abnormal chromosome 10 on preferential segregation and crossing over in maize. *Genetics*, 53:989-1020, 1966.
7. RHOADES, M.M. & DEMPSEY, E. On the mechanism of chromatin loss induced by the B chromosome of maize. *Genetics*, 71:73-96, 1972.
8. RHOADES, M.M. & DEMPSEY, E. Chromatin elimination induced by the B chromosome of maize. *J. Hered.*, 64:12-18, 1973.