

Meiose em *Tripsacum australe* Cutler e Anderson (*T. dactyloides* subsp. *hispidum* Hitchcock)

E. A. Graner e G. Addison

Escola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiroz", Universidade
de São Paulo

ÍNDICE

1) Introdução	213	Abstract	218
2) Métodos	215	Literatura citada	219
3) Meiose	215	Explicação das figuras	220
4) Resumo e Conclusões	217		

1) INTRODUÇÃO

O gênero *Tripsacum* tem merecido ultimamente especial atenção daqueles que se dedicam aos estudos dos problemas referentes à origem do milho, pois é considerado como um dos gêneros que contribuíram para o estabelecimento da espécie de milho hoje em cultivo e cuja forma selvagem está agora desaparecida.

A origem do milho é um problema dos mais complexos e foi objeto de estudos de vários investigadores. Mais recente-

mente, vem sendo este assunto encarado sob o ponto de vista da moderna citogenética (1, 2, 10, 11 e 12) e não é nossa intenção passar aqui em revista todos esses problemas, que poderão melhor ser analisados nas publicações originais.

CUTLER e ANDERSON (3) apresentaram ultimamente uma revisão detalhada de 7 espécies de *Tripsacum* e entre estas destaca-se a nova espécie por eles descrita, *Tripsacum australe*, até agora considerada como subespécie de *T. dactyloides*. Esta espécie é, segundo os referidos autores, nativa da América do Sul, tendo sido constatada na Bolívia, Brasil, Guiana Inglesa, Colômbia, Equador e Venezuela. Um dos autores mencionados (CUTLER), quando em Piracicaba, deixou em nossos laboratórios alguns exemplares dessa nova espécie e este material serviu para várias tentativas de cruzamentos com milho e também para uma análise da meiose, que será dada a seguir.

Segundo MANGELSDORF e REEVES (10) os *knobs* (*) encontrados em milho teriam vindo das espécies de *Tripsacum*. Estudos realizados por LONGLEY (5) mostraram que espécies de *Tripsacum* tem "knobs" terminais e este autor constatou em *T. floridanum* 22 "knobs", dos quais 21 são terminais. Um estudo detalhado dos cromosômios e da questão dos "knobs" em milho e teosinte foi também realizado por esse autor (4, 5, 6, 7, 8 e 9).

Interessante é agora citar aqui as observações de vários autores e inicialmente de MANGELSDORF e REEVES (10), quanto ao número de "knobs" encontrados no milho e a posição geográfica das variedades estudadas. Com exceção da espécie *T. australe*, todas as outras espécies são tidas como originárias das Américas Central ou Norte e assim as variedades de milho cultivadas nas proximidades dessas regiões teriam mais probabilidade de receber "knobs" de *Tripsacum*, enquanto que variedades cultivadas em lugares mais afastados deveriam apresentar poucos ou nenhum "knobs". De fato, tal situação foi encontrada e foi já analisada por MANGELSDORF e REEVES (10), MANGELSDORF e CAMERON (11) e REEVES (12). Encontrou-se mesmo regiões, como aquelas próximas dos Andes, onde alguns tipos de milho se apresentam sem "knobs". Esta região é considerada por alguns autores como o provável lugar da origem do milho, enquanto que outros, como BRIEGER (1 e 2), pensam ser a região de origem aquela da bacia do

(*) *Knobs*, engrossamento dos cromosômios que se colorem intensamente e observados na fase paquitene, da meiose.

rio Paraguai. Estudos preliminares que um dos autores deste trabalho (Graner) realizou em algumas variedades de milho dessas regiões, mostraram que de fato essas variedades apresentam poucos "knobs". Assim, por exemplo, uma variedade recebida do Acre, só apresentou um "knob" no cromossômio 7 e os tipos Chavantes e Diamantino tinham poucos "knobs", cujo número e localização não puderam ainda ser determinados com exatidão e número que parece não ir além de 2 ou 3. A variedade Diamantino estudada apresentou também 2 cromossômios B.

Em linhas bem gerais é essa a situação referente aos "knobs" e a sua importância nos estudos da origem do milho. Tendo sido descrita agora a nova espécie *Tripsacum australe*, encontrada em estado selvagem na América do Sul, tornou-se interessante verificar esta espécie no que se refere à presença dessa estrutura, afim de se poder depois avaliar a possível influência dela na constituição do milho cultivado.

2) MÉTODOS

Material de 3 clones de *Tripsacum australe*, que se encontram em cultivo em nossa Secção, foi fixado em três partes de álcool absoluto para 1 parte de ácido acético e conservado na geladeira. Dois desses clones são absolutamente idênticos, enquanto que o terceiro apresenta uma pequena variação na ramificação da inflorescência, no comprimento das glumas e na coloração dos estigmas. Um exame rápido da meiose, em todos os 3 clones, não mostrou diferença entre eles e assim estudos mais detalhados foram realizados em um dos clones, marcado em nossa coleção por T-3. Todas as preparações foram feitas com carmin acético. As espiquetas contendo as fases próprias da meiose mediram cerca de 8mm. e as anteras contendo figuras em diacinese, aproximadamente 3 mm, apresentando-se com uma coloração parda.

3) MEIOSE

A meiose em *Tripsacum australe* não é difícil de ser estudada, pois, encontrando-se o tamanho apropriado da antera, as células são grandes e muitas fases da meiose se apresentam com bastante frequência.

A fase **leptotene** típica não foi encontrada. Em compensação, células em sinizese são muito frequentes (Fig. 5). A fase **zigotene** é difícil de ser analisada e a fase seguinte, **paquitene**,

é encontrada com facilidade (Figs. 1, 2, 3, 4 e 6). Nesta fase os cromonemas pareados se apresentam bem engrossados e em algumas células estes pares estão bem separados, permitindo um estudo mais detalhado deles. Os cromosômios pequenos ficam muitas vezes isolados, permitindo um estudo de todo o seu comprimento, o mesmo não acontecendo com os cromosômios grandes, que ficam em parte emaranhados com os demais. O número de pares de cromosômios não é possível ser determinado nesta fase, como também não é fácil constatar-se a duplicidade de cada cromonema componente de um par e duplicidade esta que, de acôrdo com o que se sabe hoje sobre o momento da divisão longitudinal, deve existir, só não sendo observada por dificuldades de técnica. Há diferença na estrutura dos cromonemas mas é interessante observar que nada que possa ser comparado a um "knob" típico parece existir. A ausência de "knobs" nesta espécie e, principalmente "knobs" terminais, como aqueles demonstrados por LONGLEY (5) para outra espécie do gênero, pode bem ser verificada no caso dos cromosômios pequenos. As figuras 1, 2, 3 e 4 mostram bem esta situação. Na fig. 1 estão assinalados por flechas dois cromosômios pequenos desta espécie, que não apresentam "knobs". Também algumas extremidades dos grandes cromosômios podem ser examinadas, não apresentando essas estruturas. As mesmas figuras mostram ainda que provavelmente não existem "knobs" nas demais regiões dos cromosômios, mas esta afirmação não pode ser tomada como decisiva, pois houve muitas vezes dificuldades no exame do cromosômio em toda a sua extensão. Porém, sempre quando possível o exame de regiões não terminais dos cromosômios, não foram nelas constatados "knobs". A fase seguinte, diplotene, pode ser examinada nas figuras 7, 8, 9, e 10. A fig. 7 mostra muito bem o início de separação dos pares de cromatídeos irmãos, indicando o início da força de repulsão contrariando a força de atração, que até agora mantinha os pares em conjunto. Esta separação é impedida em alguns pontos, formando os quiasmas e que podem ser constatados nas figuras mencionadas. Pode-se verificar nesta fase a grande diferença de tamanho dos cromosômios e o número variável de quiasmas para cada cromosômio, que dão formas diferentes às tétrades, conforme a sua localização. O engrossamento notado a partir do paquitene acentua-se cada vez mais na fase diplotene e engrossamento este que é progressivo, mostrando a figura 10 já as tétrades bem separadas umas das outras. As figuras 11 e 12 mostram a fase diacinese, onde os pares de cromosômios estão bem distintos, notando-se

ao mesmo tempo uma diminuição de tamanho do nucléolo. Pode-se nesta fase contar perfeitamente o número de pares de cromossômios, que é 18. Alguma diferença de tamanho pode já ser observada. Com o desaparecimento do nucléolo, chega-se à **metáfase I**, mostrada na figura 13, onde se pode melhor verificar a diferença de tamanho dos cromossômios. A contração deles é mais intensa e a estrutura em pares deixa também de ser visível, podendo-se contar nesta fase muito bem 18 unidades, que é o número haplóide de cromossômios desta espécie. As figuras 14 e 15 indicam estados na **anáfase I**. A fig. 14 mostra uma anáfase muito inicial e a fig. 15 uma anáfase bem avançada, 18 cromossômios sendo então distribuídos regularmente para cada polo. A fig. 16 mostra um fim de anáfase I e a fig. 17 uma **intercinese**. Segue-se também uma divisão do citoplasma e em cada uma das duas novas células formadas dá-se agora a **metáfase II**. A fig. 18 A mostra 2 metáfases II, onde se pode-se perfeitamente contar o número de cromossômios e onde se verifica também muito melhor a diferença de tamanho entre êles. Por esta figura pudemos reunir os cromossômios em grupos, conforme o seu tamanho. Assim, distinguimos três grupos: grandes, médios e pequenos. No grupo grande encontramos dois cromossômios, no médio 6 e no pequeno 10 cromossômios, assinalados na figura pelas letras G, M, e P, respectivamente. A figura 19 mostra a **telófase II** e a figura 20 uma **tétrade**. As figuras 21 e 22 mostram diferentes estados do grão do pólen.

4) RESUMO E CONCLUSÕES

Depois de uma breve introdução, mostrando a importância que o gênero *Tripsacum* desempenha hoje nos problemas da origem do milho, fizemos um estudo detalhado da meiose na nova espécie *Tripsacum australe*, descrita recentemente por CUTLER e ANDERSON (3) e espécie esta encontrada em estado selvagem na América do Sul.

Todas as fases da meiose mostraram-se normais e o número de cromossômios, facilmente determinado nas fases diacinese, metáfase I, metáfase II, é de 18 para a fase haplóide. Esta espécie não difere, quanto ao número de cromossômios, da forma diplóide *Tripsacum dactyloide* e da espécie *Tripsacum floridanum*, estudadas por LONGLEY (5). Segundo MANGELSDORF e REEVES (10) as formas de *Tripsacum* encontradas na América Central têm 72 cromossômios e são consideradas como autotetraplóides.

Entretanto, no que se refere à presença de "knobs" nos cromosômios, esta espécie parece diferir da espécie estudada por LONGLEY (5). *Tripsacum australe* não apresenta "knobs" nas extremidades dos cromosômios e provavelmente também nas outras regiões pois as figuras que puderam ser examinadas não mostraram essa estrutura.

Segundo MANGELSDORF e REEVES (10) os "knobs" presentes no milho teriam vindo de *Tripsacum*, por meio de cruzamento entre estes dois gêneros. Assim sendo, os tipos de milho cultivados próximos ao centro de distribuição das espécies de *Tripsacum* até então conhecidas, e que é a região da América Central, principalmente o México, deveriam se apresentar bastante contaminados por este gênero e apresentariam mais "knobs" do que aqueles tipos de milho cultivados longe da referida região. Observações de vários autores (6, 7, 9, 10, 11 e 12) confirmam esta hipótese, inclusive aquelas realizadas por um dos autores deste trabalho (Graner, não publicado) em material sul-americano.

Tendo sido encontrada agora esta nova espécie de *Tripsacum* na América do Sul, aparentemente sem "knobs", torna-se interessante verificar se ela não poderia ter contribuído para o estabelecimento das formas de milho sem "knobs" encontradas na América do Sul. Cruzamentos entre milho e *Tripsacum australe* foram realizados por um dos autores (Addison), não tendo porém produzido sementes. Outras pesquisas tornam-se então necessárias afim de que se possa tirar conclusões a respeito de tão importante assunto.

ABSTRACT

The meiosis of *Tripsacum australe*, a new specie native in South America and described by CUTLER and ANDERSON (3) was studied in detail. All stages were found to be normal and the chromosome number equal to 18 in the haploid phase.

The most peculiar fact found in this plant was the absence of knobs, mainly at the end of chromosomes and shown in figs. 1 to 4. According to the above observations, this specie seems to be different from the species studied by LONGLEY (5) and the importance of this point regarding the problems of origin of maize was emphasized.

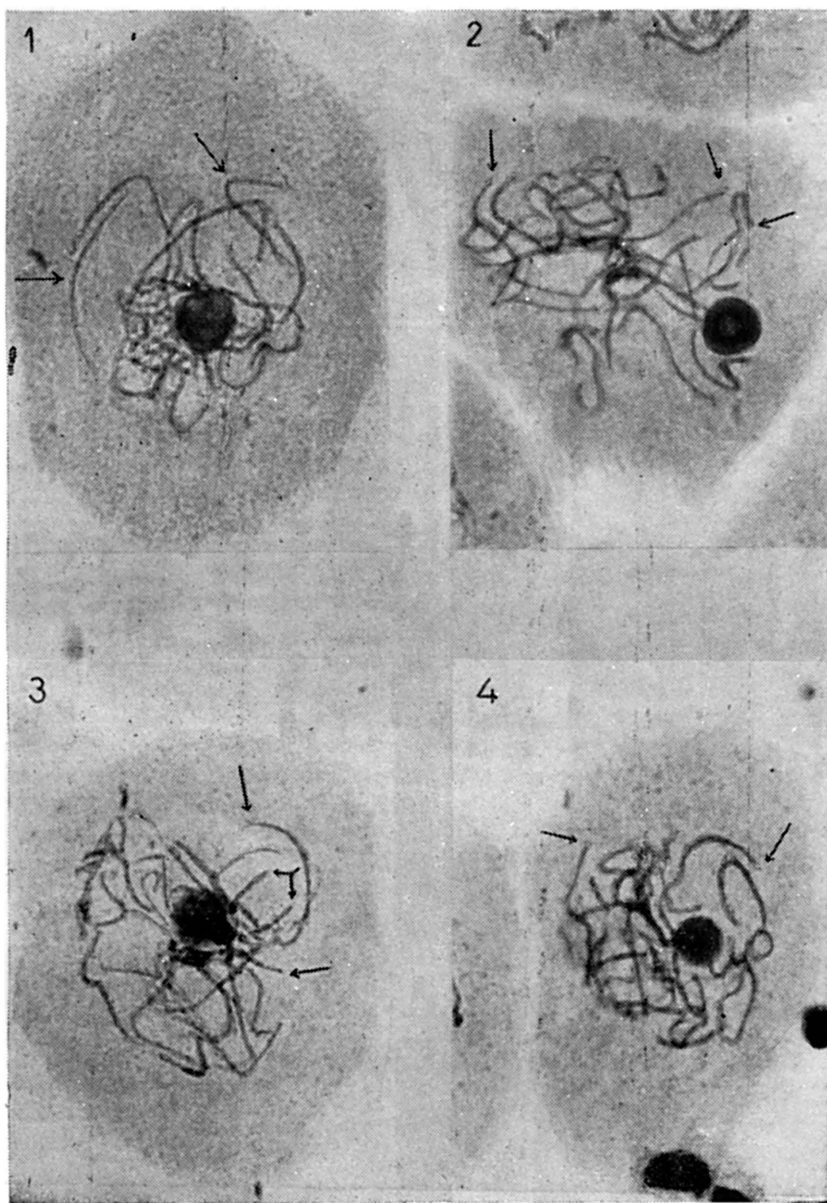
LITERATURA CITADA

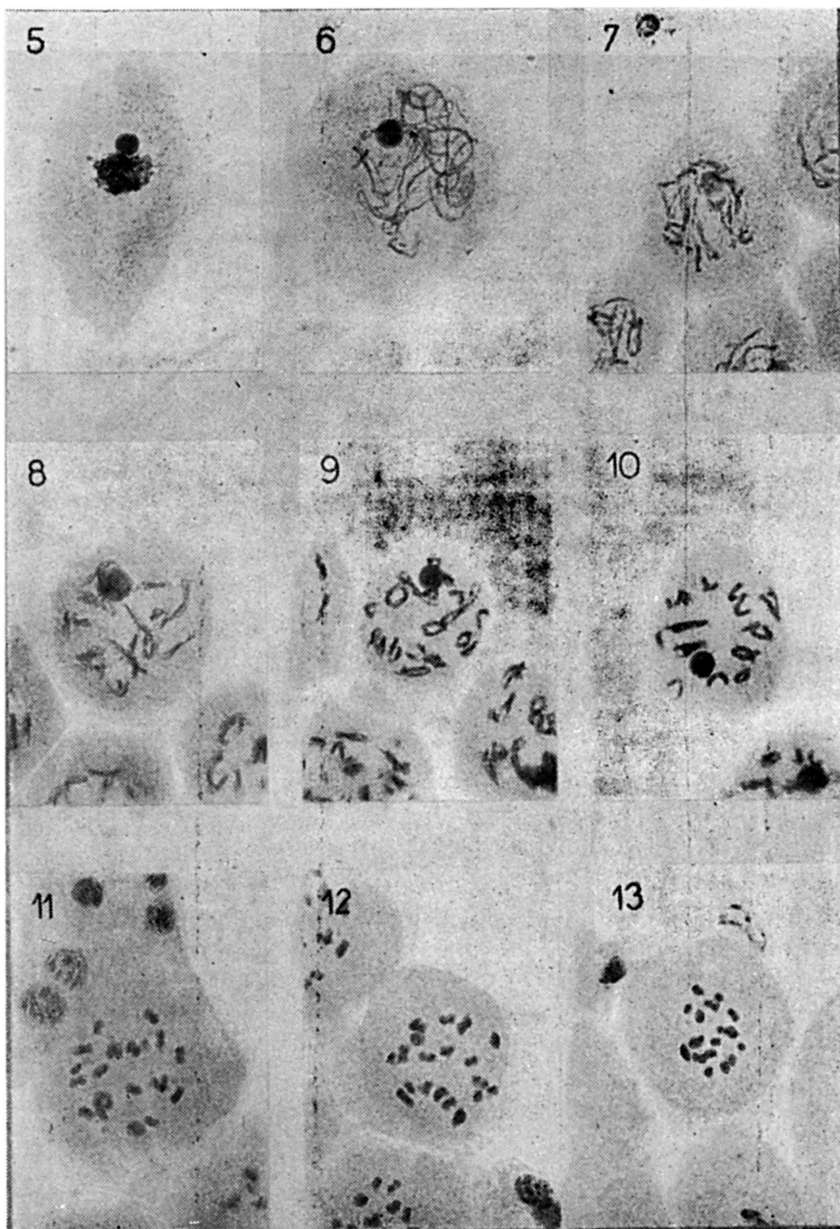
- 1) BRIEGER, F. G. (1944) Origem do milho. Revista de Agricultura. 18: 409-418.
- 2) BRIEGER, F. G. (1944) Estudos experimentais sobre a origem do milho. Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". (Em impressão).
- 3) CUTLER, H. C. and E. ANDERSON (1941) A preliminary Survey of the Genus *Tripsacum*. Annals of Missouri Botanical Garden. 28: 249-269.
- 4) LONGLEY A. E. (1924) Chromosomes in Maize and Maize Relatives. Journal of Agricultural Research. 28: 673-681.
- 5) LONGLEY, A. E. (1937) Morphological Characters of Teosinte Chromosomes. Journal of Agricultural Research. 54: 835-862.
- 6) LONGLEY, A. E. (1938) Chromosome of Maize from North American Indians. Journal of Agricultural Research. 56: 177-195.
- 7) LONGLEY, A. E. (1939) Knob position on corn chromosomes. Journal of Agricultural Research. 59: 475-490.
- 8) LONGLEY, A. E. (1941) Knob positions on teosinte chromosomes. Journal of Agricultural Research. 62: 401-413.
- 9) LONGLEY, A. E. (1941) Chromosome morphology in maize and its relatives. Botanical Review. 7: 263-289.
- 10) MANGELSDORF, P. C. and R. G. REEVES (1939) The origin of indian corn and its relatives. Texas Agricultural Experiment Station. Bulletin N. 574.
- 11) MANGELSDORF, P. C. and J. W. CAMERON (1942) Western Guatemala, a secondary center of origin of cultivate maize varieties. Botanical Museum Leaflets, Harvard University. 10: 217-252.
- 12) REEVES, R. G. (1944) Chromosome knobs in relation to the origin of maize. Genetics. 29: 141-147.

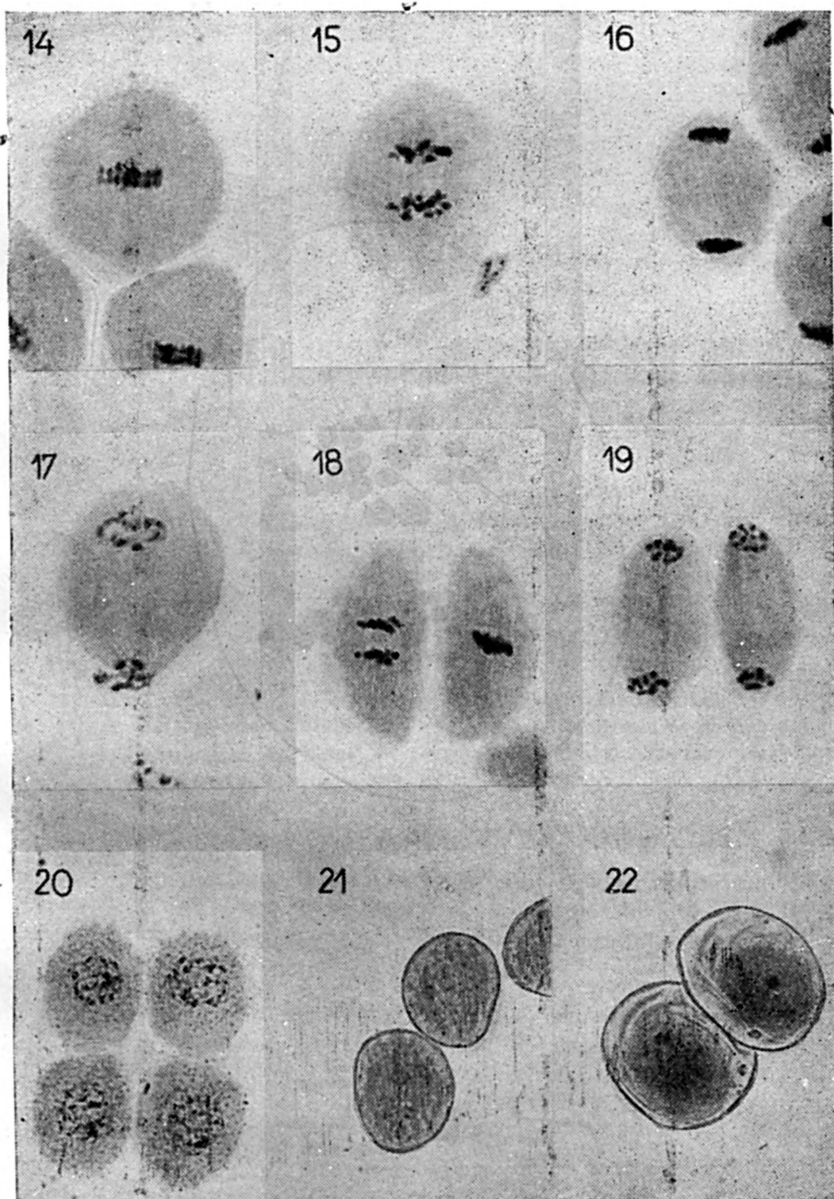
EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

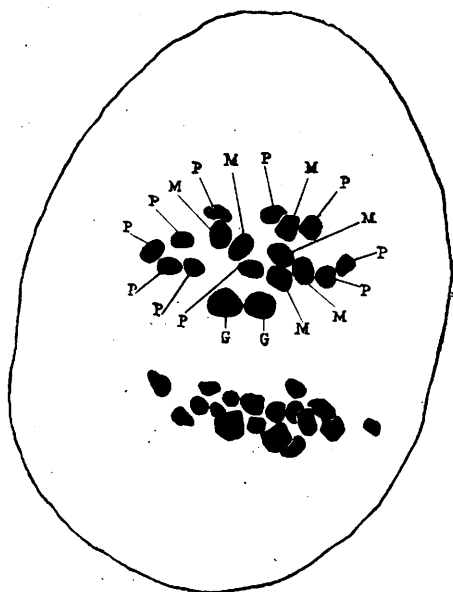
Figs. 1 a 4 — **Paquitene**. Notar a ausência de knobs nas extremidades, assinaladas por setas nas figs. 2 e 4. A figura 1 mostra, assinalados por setas, dois cromossomos pequenos, também sem knobs. ($\times 1000$).

Fig. 5	Sinizese	($\times 500$)
Fig. 6	Paquitene	($\times 500$)
Fig. 7, 8, 9 e 10	Diplotene	($\times 500$)
Fig. 11 e 12	Diacinese	($\times 500$)
Fig. 13	Metáfase I	($\times 500$)
Fig. 14 e 15	Anáfase I	($\times 500$)
Fig. 16	Fim da Anáfase I	($\times 500$)
Fig. 17	Intercinese	($\times 500$)
Fig. 18	Anáfase II e Metáfase II	($\times 500$)
Fig. 18 A	Metáfase II	($\times 2000$)
Fig. 19	Telófase II	($\times 500$)
Fig. 20	Tétrade	($\times 500$)
Fig. 21 e 22	Grãos de pólen	($\times 500$)









18 A