

Estudos genéticos sôbre o Milho Tunicata (*)

F. G. Brieger

*Escola Superior de Agricultura
"Luiz de Queiroz", Universidade
de S. Paulo*

ÍNDICE

I — Introdução	210		IV — Resumo	226
II — Análise do milho Tunicata Paulista ..	211		Abstract	227
III — Tunicata Boliviano .	225		Literatura	229

(*) Recebido para publicação em 13-IX-1945.

I — INTRODUÇÃO

O milho *tunicata* ou "pod corn" foi descrito pela primeira vez por A. de ST. HILAIRE (1829), o qual recebeu metade de uma espiga deste tipo de milho do Brasil. Desde os primeiros estudos genéticos de COLLINS (1917a, b), muitos autores se ocuparam com esta forma do milho, como se pode ver nos resumos bibliográficos em MATSUURA (1931) e MANGELSDORF e REEVES (1939). Verificou-se que as plantas contêm um gen dominante *Tu*, localizado no cromossômio IV, cerca de 30 centimorgans distante do fator *su-1* (doce), (EMERSON, etc.), (1935).

O material usado nesta publicação é de duas proveniências: **Milho Tunicata Paulista** (Paulista Pod Corn) e **Milho Tunicata Boliviano** (Bolivia Pod Corn).

O **Tunicata Paulista** da nossa coleção é derivado de uma espiga que um aluno desta Escola deixou no nosso laboratório e que deu plantas com porte do tipo geralmente cultivado no Estado de S. Paulo, pertencendo ao grupo de milho Cateto, segundo a classificação dos milhos sul-americanos de BRIEGER, (1944b).

O **Tunicata Boliviano** foi obtido por duas vezes, diretamente do professor MARTIN CARDENAS, Reitor da Universidade de Cochabamba e do Dr. H. C. CUTLER, da Harvard University, que o colheu na Bolívia. Esses dois colegas me informaram que esta forma de milho é cultivada pelos índios para fins de sua "medicina mística" (CUTLER, ainda não publicado). O cultivo em Piracicaba do milho *tunicata* dos Andes oferece bastantes dificuldades, visto que êle, como tôdas as demais variedades andinas, não se desenvolve normalmente nas condições de Piracicaba, talvez em virtude da diferença de altitude, de cerca de 500 metros, contra 2.000 metros. As plantas andinas crescem em geral normalmente, mas produzem espigas mal granadas e pequenas ou mesmo nenhuma espiga.

O estudo do milho *Tunicata* ou milho encoberto merece um interesse especial sob vários pontos de vista, como sejam da filogenia, da botânica e da genética do milho.

A importância do milho *Tunicata* para o problema da origem do milho foi discutida amplamente em alguns trabalhos recentes (MANGELSDORF e REEVES 1939, BRIEGER 1943, 1944a e b). Do ponto de vista da botânica, um estudo detalhado das inflorescências desta variedade dá resultados muito interessantes e que serão discutidos em outra publicação. A análise genética constitui o assunto do presente trabalho.

II — ANALISE DO MILHO TUNICATA PAULISTA

a) Os efeitos fenotípicos do gen Tu

O efeito principal que o gen Tu exerce sôbre o fenótipo é o desenvolvimento forte das glumas e outros órgãos folhares das espiguetas que cobrem os ovários e mais tarde os grãos maduros. Porém esta ação do gen é apenas a mais fácil de ser observada e também a mais constante. De resto, podemos constatar que o gen é extremamente pleiotrópico, exercendo influências sôbre muitos outros órgãos da planta. Estes efeitos porém são muito variáveis e dependem ainda da presença de certos conjuntos de gens modificadores que juntam seus efeitos à ação do gen tunicata como gen determinador (BRIEGER, 1943 e 1944a e b). Mencionaremos em seguida alguns d'êstes efeitos pleiotrópicos.

Flechas — As flechas terminais de plantas tunicata podem apresentar as formas mais diversas, desde flechas com flores normais masculinas, com glumas apenas pouco maiores do que o normal, até estruturas equivalentes a espigas ramificadas. Neste último caso encontramos o eixo central transformado em uma verdadeira espiga, exceto a ráquis, que fica muito flexível, sendo os ramos desta inflorescência também mais ou menos flexíveis, contendo quatro fileiras com flores femininas, masculinas ou hermafroditas. (Compare as fotografias em BRIEGER 1944b, Fig. 3).

Fôlhas superiores da planta — Em plantas com a flecha transformada na forma que acabámos de descrever, é comum notar-se que as últimas fôlhas da planta, em baixo desta flecha, começam a se transformar em palhas. A parte basal forma uma bainha que envolve uma parte da flecha, sendo do outro lado a lâmina da fôlha de tamanho mais ou menos reduzido. Além disso, podemos ver na fotografia já citada, que os internódios entre estas fôlhas ficam curtos, de modo que as fôlhas ficam encaixadas, cada uma dentro da bainha da fôlha anterior, numa forma muito semelhante às palhas das espigas laterais.

Ráquis da flecha — Nas flechas pode se constatar com muita frequência um atraso da maturação e do endurecimento da ráquis no eixo principal e nos galhos laterais, de modo que eles se curvam sob o seu próprio pêso. Quando eles finalmente endurecem ou secam, eles mantêm estas curvaturas, dando as-

sim flechas "caídas" em vez de eretas. O retardamento da maturação é especialmente notável nas flechas que carregam um número maior de flores femininas ou hermafroditas.

Fileiras conjugadas de espiguetas — Nas inflorescências das *Maydeae* encontramos em geral pares de fileiras de espiguetas conjugadas. Nas partes masculinas das inflorescências dos gêneros americanos, *Tripsacum* e *Euchlaena* e nos galhos da flecha de *Zea* um par de fileiras é disposto em cada lado do galho, e às vezes uma fila de cada par é séssele e a outra é pedunculada. As espigas de milho contêm um número variável de 4 até cerca de 10 pares de fileiras iguais. O gen *Tu* provoca frequentemente uma diferenciação entre a componente dos pares, especialmente nas flechas transformadas e em espigas laterais do cruzamento *tunicata* x teosinto. Uma fila é então formada por espiguetas sésseis e geralmente femininas ou hermafroditas, enquanto que a outra espiguetas é essencialmente masculina, com pedúnculos longos.

Espiguetas — As espiguetas das *Maydeae* contêm na regra duas flores, sendo ambas férteis em espiguetas masculinas, e uma só fértil em espiguetas femininas. O gen *Tu* introduz frequentemente um aumento de número de flores por espiguetas. O máximo até agora observado por mim é de três flores férteis, além de mais duas estéreis.

Altura da planta — As plantas do milho *tunicata* parecem ser frequentemente mais baixas do que indivíduos irmãos *tu tu*, mas esta diferença é evidentemente devida apenas à curvatura das flechas causada pelo gen *Tu*. As medições de altura não revelaram nenhuma diferença estatística, e do outro lado encontrei até indicações de um aumento do número das folhas em milho *tunicata*.

A variabilidade de todos estes característicos é muito pronunciada, e experimentos de seleção provaram que uma grande parte desta inconstância é devida ao efeito acumulado dos gens modificadores. Estes gens são sem efeitos em tôdas as plantas da constituição *tu tu* e agem apenas na presença do gen *Tu*, pois não havia praticamente variação nas primeiras. Nas plantas com as quais iniciei os experimentos, a ação do gen era limitada a um aumento do tamanho das glumas nas espigas, sendo as plantas irmãs tanto da constituição *Tutu* como *tutu* idênticas em tôdas as outras características.

Foram executadas três séries diferentes de seleção: a) intensificação da transformação da flecha em uma inflores-

cência hermafrodita, em milho puro; b) transformação da espiga para aproximar-se a estrutura da flecha, em descendentes do cruzamento do milho tunicata com teosinto; c) redução do efeito principal, isto é, a redução do tamanho das glumas nas espigas, em milho puro. Inclui fotografias dos resultados obtidos até 1944 em duas publicações anteriores (BRIEGER 1944a e b). Novas observações serão descritas num trabalho no qual será discutido em detalhe o aspecto botânico do problema.

Todos os autores que estudaram a genética do gen **Tu** registraram o fato que as plantas homozigotas **TuTu** são viáveis, mas eram até hoje sempre estéreis, e não notei qualquer exceção no que diz respeito à esterilidade da espiga. Usando os grãos formados nas flechas, obtive famílias que parecem ser homozigotas, sendo porém os números obtidos ainda não suficientes para fazer uma análise estatística decisiva. Não existe nenhuma diferença fenotípica fundamental entre plantas homozigotas **TuTu** e heterozigotas **Tutu**. Parece apenas que os homozigotos **TuTu** de cada família são todos bem diferentes dos seus irmãos normais **tutu**, enquanto que os heterozigotos podem ser pouco ou muito diferentes. As fotografias já publicadas (1944a) e que representam as formas mais extremas obtidas se referiam sempre a indivíduos heterozigotos.

b) Análise genética do Tunicata Paulista

Para a análise genética um número relativamente grande de famílias foi estudado, tanto no que diz respeito à segregação em **F2** como nos "backcrosses". Os dados estão reunidos nos Quadros 1 a 3.

Nos "backcrosses" da constituição **Tutu x tutu**, vários tipos de milho sul-americano foram empregados, e em todos os casos podia-se constatar uma segregação mendeliana perfeitamente normal (Quadro 1), como comprovado pelo X^2 teste para a percentagem esperada de 50%. Num total de 1.566 plantas, 507 ou 51,6% eram plantas tunicata. O X^2 total, que foi obtido somando-se os valores X^2 individuais por família, deu um valor de 9,57 que com 14 graus de liberdade é insignificante. O X^2 para o grande total também é insignificante com um valor de 1,41 para um grau de liberdade.

A análise dos "back-crosses" recíprocos (**tutu x Tutu**) deu de outro lado um resultado bastante diferente, o qual não pode ser explicado pela simples fórmula monofatorial. (Quadro 2). Executámos em primeiro lugar o X^2 teste para uma fre-

quência esperada de 50% de plantas **Tutu** e 50% de plantas **tutu**. Os valores X^2 por família (sétima coluna do Quadro 2) são extremamente grandes, com a exceção de apenas duas famílias, de modo que não é necessário somá-los. Eles são bem maiores do que o 1°/oo limite de 10,82 para um grau de liberdade. Do mesmo modo, também o grande total, com apenas 41,3% de plantas **tunicata** em 1.444 indivíduos é bem diferente do valor ideal de 50%, sendo o valor correspondente de X^2 igual a 50,60.

Estudando as dez famílias em detalhe, torna-se evidente que elas podem ser reunidas em cinco grupos.

As duas famílias 601-1942 e 598-1942 dão evidentemente uma segregação monofatorial típica, com cerca de 50% de plantas **tunicata Tutu**.

Duas outras famílias dão desvios médios do valor monofatorial. Numa, obtemos 37,5% de plantas **tunicata (Tutu)**, e na outra, ao contrário, temos quase a mesma percentagem (33,6%) de plantas normais não **tunicata (tutu)**.

As famílias restantes também formam dois grupos simétricos, sendo uma formada por 5 famílias com 7,7% até 17,7% de plantas **tunicata** e a outra por uma só família com 10,5% de plantas não **tunicata**.

O aparecimento de desvios simétricos do valor ideal monofatorial de 50% é uma forte indicação da presença e da segregação de um gen que causa distúrbios secundários por processos de eliminação ou entre gones ou de zigotes. A segunda possibilidade porém pode ser imediatamente excluída, pois não há uma indicação da existência de sementes abortivas ou de uma falta de germinação das sementes. Além disso, as anormalidades aparecem apenas quando usamos o pólen das plantas heterozigotas, e a segregação no "back-cross" **Tutu x tutu** era absolutamente normal (Quadro 1). Assim, resta a hipótese de uma eliminação gônica ou gametofítica. O pólen das plantas **tunicata** sempre era perfeitamente normal e viável, de modo que é justificado supor a presença de um par de aleles gametofíticos que causam uma competição e, em consequência disso, uma eliminação entre tubos polínicos.

A natureza da ação de tais gens responsáveis pela competição entre tubos polínicos, como também os métodos da análise genética, foram discutidos amplamente numa outra publicação nestes Anais (BRIEGER 1945a), de modo que podemos tratar aqui do problema de forma mais resumida. Na referida publicação expliquei que os efeitos da competição entre tubos polínicos, causados pelos gens gametofíticos, devem afetar a

segregação dos gens localizados no mesmo cromossômio, de modo mais ou menos intenso, de acordo com o grau de ligação genética dos gens em estudo.

Chamamos os gens gametofíticos pelas letras *Ga* e *ga*, supondo que, no mínimo uma parte dos tubos da constituição *Ga* cresce mais depressa que a maioria dos tubos com o gen *ga*. Assim um maior número de tubos *Ga* chega primeiro às oosferas dentro dos óvulos, e um maior número de embriões recebe o gen *Ga* do que o gen *ga*. A intensidade da eliminação dos tubos *ga* varia de acordo com as condições fisiológicas, morfológicas e genéticas, como explicado na publicação citada (BRIEGER 1945a). Com referência ao gen *Ga2* localizado no cromossômio V do milho (BRIEGER 1937a), constatai que existem famílias com uma eliminação sistematicamente mais forte e outras com uma competição mais fraca. O mesmo parece ser o caso no material resumido no Quadro 2, no qual temos, além do grupo com segregação sem eliminação, um grupo com uma eliminação forte e outro grupo com eliminação fraca, seja dos fatores *Tu*, seja *tu*, que nós supomos ligados aos alelos *Ga* e *ga*.

Toda esta hipótese pode ser provada por dois experimentos. Em primeiro lugar, devem aparecer anomalias nas famílias obtidas por autofecundação, correspondentes àquelas já descritas para o "back-cross". Depois, outros gens localizados no mesmo cromossômio IV devem sofrer alterações na sua segregação quando combinados por cruzamento com os gens gametofíticos. Ambos estes testes foram executados e serão descritos em detalhe.

Foram analisadas 11 famílias obtidas por autofecundação de plantas heterozigotas *Tutu* (Quadro 3). Num total de 541 indivíduos apareceram apenas 70,1% plantas *tunicata*, em vez de 75%; o valor correspondente de X^2 sendo igual a 5,24 é portanto, apenas duvidoso. O X^2 total das 11 famílias, em relação à segregação monofatorial com 75% de plantas *Tu*, deu um valor de 43,74 que é também altamente significativo. O X^2 teste por família é significativo, no mínimo para uma parte das famílias. Todos estes valores de X^2 constam da sétima coluna do Quadro 3.

Agrupamos então as onze famílias em cinco grupos de acordo com a divisão feita anteriormente para o "back-cross", esperando as seguintes segregações: (Oitava até última coluna do Quadro3).

Constituição: $\frac{TuGa}{tuGa}$ autofecundado

Eliminação forte:

$$\frac{1}{100} \cdot (50\% Tu + 50\% tu) \text{ ♀ } \times (12\% Tu + 88\% tu) \text{ ♂}$$

esperado: = 56% Tu— + 44% tutu
 observado: 49,5% Tu— + 50,5% tutu
 com $X^2 = 1,80$

Eliminação fraca:

$$\frac{1}{100} \cdot (50\% Tu + 50\% tu) \text{ ♀ } \times (36\% Tu + 64\% tu) \text{ ♂}$$

esperado: 68% Tu— + 32% tutu
 observado: 70,7% Tu— + 29,3% tutu
 com $X^2 = 0,77$

Constituição: $\frac{TuGa}{tuGa}$ ou $\frac{Tuga}{tuga}$ autofecundado

Sem eliminação:

$$\frac{1}{100} \cdot (50\% tu + 50\% tu) \text{ ♀ } \times (50\% Tu + 50\% tu) \text{ ♂}$$

esperado: = 75% Tu— + 25% tutu
 observado: 76,7% Tu— + 23,3% tutu
 com $X^2 = 0,01$

Constituição: $\frac{TuGa}{tuga}$ autofecundado

Eliminação fraca:

$$\frac{1}{100} \cdot (50\% tu + 50\% tu) \text{ ♀ } \times (64\% Tu + 36\% tu) \text{ ♂}$$

esperado: = 82% Tu— + 18% tutu
 observado: 86,7% Tu— + 23,3% tutu
 com $X^2 = 0,22$

Eliminação forte:

$$\frac{1}{100} \cdot (50\% Tu + 50\% tu) \text{ ♀ } \times (88\% Tu + 12\% tu) \text{ ♂}$$

esperado: = 94% Tu— + 6% tutu
 observado: 91,7% Tu— + 8,3% tutu
 com $X^2 = 0,11$

O agrupamento das famílias foi feito, como se pode ver no Quadro 3, de acôrdo com as fórmulas dadas acima, e foram calculadas as percentagens médias de plantas Tu - em cada grupo. A comparação dos valores obtidos e calculados foi feita pelo X² teste, tanto individualmente por família como também para os grupos, sendo todos os valores de X² insignificantes. Além disso comprovei as fórmulas genéticas (Quadro 3, última coluna) de uma parte das famílias pela análise dos seus descendentes.

Podemos resumir os resultados da análise genética da segregação do Tunicata Paulista: Trata-se de uma segregação de um par de fatores, Tu e tu, complicada pela ação de um par de gens gametofíticos, que não afeta a segregação no lado feminino, mas que provoca uma competição entre tubos polínicos, que pode ser fraca ou forte. Quando as plantas são homozigotas para o gen gametofítico, a segregação é normal. De acôrdo com a fase de ligação, a eliminação atinge os tubos polínicos com o gen Tu ou aqueles com o gen tu.

c) Cruzamentos com milho doce

Mencionaremos que uma outra prova decisiva da existência de um gen gametofítico, responsável pela segregação anormal do gen Tu, é constituída pela análise da segregação de outros gens, localizados no mesmo cromossômio. Foi escolhido para este fim o gen responsável pelo aparecimento de grãos doces, su 1, localizado também no cromossômio IV.

Para os cruzamentos foram escolhidos indivíduos tunicata das famílias 86-1942 e 89-1942. De acôrdo com a classificação dada no Quadro 3, ambos são descendentes de plantas de constituição Tuga/tuGa, e nas quais o gen gametofítico causou uma eliminação apenas fraca. Assim os cruzamentos com o milho doce são representados pelas fórmulas seguintes :

$$\frac{Tu\ ga\ Su}{tu\ Ga\ Su} \times \frac{tu\ Ga\ su}{tu\ Ga\ su} \quad e \quad \frac{tu\ Ga\ su}{tu\ Ga\ su} \times \frac{Tu\ ga\ Su}{tu\ Ga\ Su}$$

Quando as plantas tunicata eram usadas como mães, devíamos esperar 50% de plantas Tutu, e quando elas serviam como pais, a percentagem devia ser de 41% apenas. Uma vez que o número de plantas era muito pequeno, o X² teste não pôde dar resultados decisivos, como se pode ver na última coluna do Quadro 4.

As plantas híbridas obtidas devem pertencer a um dos seguintes quatro genótipos :

$\frac{Tu\ ga\ Su}{tu\ Ga\ su}$	mais frequente, não "crossover"	Com seleção
		Tunicata
$\frac{Tu\ Ga\ Su}{tu\ Ga\ su}$	mais raro, provindo do "crossing-over"	Sem seleção
$\frac{tu\ Ga\ Su}{tu\ Ga\ su}$	mais frequente, não "crossover"	Sem seleção
		Não tunicata
$\frac{tu\ ga\ Su}{tu\ Ga\ su}$	mais raro, provindo do "crossing-over"	Com seleção

Assim é claro que a maioria dos heterozigotos tunicata, quando autofecundados ou quando o seu pólen foi usado em "back-crosses" deve dar uma segregação anormal do gen "doce", com uma deficiência de segragados duros, pois a eliminação do fator gametofítico afeta os tubos da constituição *ga Su*.

Do outro lado, as plantas não-tunicata darão na sua maioria uma segregação perfeitamente normal, com 25% de grãos doces, depois da autofecundação, e 50% de grãos doces quando usadas em "backcrosses".

Os "crossovers" darão em ambos os casos os resultados opostos: Os descendentes de plantas tunicata darão então uma segregação normal e os descendentes dos indivíduos não-tunicata darão um excesso de grãos doces.

Em todos os casos devemos esperar nos "back-crosses" femininos da constituição *Susu x susu* uma segregação normal, pois o gen gametofítico causa apenas distúrbios entre os tubos polínicos, mas não entre os megasporios.

Os resultados obtidos são resumidos nos Quadros 5 e 7. Não damos os detalhes de cada família, mas apenas os resultados em forma sumária, pois parece nem praticável e nem necessário publicar quadros com os dados individuais de mais de 300 espigas. A análise mostrou que existiam diferenças entre os descendentes das plantas tunicata da família 89-1942 (Quadro 5) e 86 — 1942 (Quadro 7). Tratemo sentão em primeiro lugar dos cruzamentos de descendentes da família 89-1942.

Os "back-crosses" femininos (grupo A e B no Quadro 6) deram todos uma segregação normal como esperado, exceto duas plantas. Os resultados da contagem das espigas nestas plantas eram completamente aberrantes, com cerca de 75% de grãos doces. Estudos foram encaminhados para decidir se se trata do aparecimento de outros gens do milho doce como os gens *su2* (Eyster 1934) ou *su x* (Horowitz 1943) ou ainda de gens modificadores.

Os "back-crosses" masculinos da constituição *susu* x *Susu* estão resumidos no grupo C do Quadro 6. Neste grupo devíamos esperar, que a maioria das espigas desse uma percentagem de grãos doces superior a 50%, a qual corresponde à segregação de 1:1, e de fato obtivemos uma percentagem de cerca de 53%. Pode parecer que este valor difere apenas pouco do valor ideal de 50%, porém devemos levar em consideração que ele foi calculado de um total de cerca de cinquenta espigas com mais do que 10.000 grãos.

As famílias obtidas por autofecundação são divididas em dois grupos. No grupo D (Quadro 5) temos reunidos os dados referentes às autofecundações de plantas *tunicata*. Expliquei acima que devemos esperar neste caso uma percentagem de grãos doces superior ao valor ideal de 25% e obteve-se de fato cerca de 30%. No grupo E (Quadro 5) finalmente, correspondendo às plantas *não-tunicata* autofecundadas, aparece, como esperado, em geral uma segregação normal com cerca de 25% de grãos doces, num total de mais de trinta mil grãos contados, de mais do que 100 espigas.

No Quadro 5, separei ainda, dentro dos grupos C até E, as famílias derivadas de plantas "crossovers" dos demais "não-crossovers", devendo ser explicado como esta separação foi obtida.

Nos grupos C, D e E, as famílias foram agrupadas de acordo com os seus desvios relativos, calculados em relação a valores esperados de 53% *susu* no grupo C, 30% no grupo D e 25% no grupo E. Os resultados são reunidos no Quadro 6 de tal forma que as extremidades das distribuições nas quais devem ser encontradas as famílias "crossovers" se encontram na base do Quadro. Como explicamos acima, os "crossovers" no grupo C darão desvios relativos negativos referentes a 53%; o mesmo acontece no grupo D, enquanto que no grupo E os "crossovers" devem dar desvios positivos. Organizando o Quadro desta forma, podemos reunir os três grupos e executar o X^2 teste entre as frequências observadas, num total de 208 desvios relativos, e as frequências esperadas numa distribuição do acaso.

Os resultados desta reunião e os valores de X^2 correspondentes constam das três últimas colunas à direita do Quadro 7. Todos os valores de X^2 são insignificantes, exceto aquele que corresponde à extremidade da distribuição, colocado em baixo do Quadro 7. Aqui encontramos 23 desvios observados, comparados com apenas 4,6 esperados, o que dá um valor de X^2 muito significativo de 73,60. Assim podemos aceitar como comprovada a existência de um número de plantas "crossovers".

A classe que deu um X^2 significativo inclui todos os desvios maiores do que duas vezes seu erro standard. É bastante evi-

dente que alguns destes desvios deviam ser atribuídos ainda a variações do acaso, podendo ser calculado o seu número máximo pela seguinte fórmula, sendo 9,5481 o valor do X^2 no 1%o limite e 4,6 a frequência esperada :

$$\frac{(x-4,6)^2}{4,6} = 9,5481 ; x = 4,6 \pm \sqrt{9,5481 \cdot 4,6} = 4,6 \pm 6,63$$

Obtemos finalmente para o número de desvios de acaso :

$$\text{mínimo : } 4,6 - 6,63 = (\text{zero})$$

$$\text{máximo : } 4,6 + 6,63 = 11,23.$$

Assim, tôdas, no máximo, ou no mínimo $23-11 = 12$ das famílias que deram um desvio relativo maior do que 2,0 devem ser consideradas como pertencendo ao grupo de plantas "crossover", e não como desvio de acaso.

Classificámos no Quadro 5 provisoriamente tôdas as famílias que deram um desvio relativo maior do que 2,0 como "crossover", mas não devemos esquecer a restrição que : a) alguns dêles podem de fato ser apenas desvios do acaso e não "crossover"; b) outros "crossovers" deram um desvio menor ainda do que 2,0 e assim ficaram despercebidos. Apesar destas reservas, adotei o valor de um desvio relativo igual a dois como o valor limitante para separar as famílias "não-crossovers" e "crossovers". Como se pode ver, havia assim 3 "crossovers" e 48 "não-crossovers" no grupo C, 10 "crossovers" e 30 "não-crossovers" no grupo D, 10 "crossovers" e 107 "não-crossovers" no grupo E (Quadro 5).

Em consequência da separação apenas aproximativa dos "não-crossovers" e dos "crossovers", no Quadro 5, devemos admitir que as percentagens médias de grãos doces *susu* para os dois não são muito exatas, sendo talvez um pouco alta para os "não-crossovers" nos grupos C e D e os "crossovers" no grupo E, e de outro lado baixa demais para os "crossovers" nos grupos C e D : Assim obtivemos nestes últimos casos apenas 45,8% em vez de 50% para o grupo C e 20,7% em vez de 25% no grupo D.

Podemos agora comparar se o valor de 53% para o "back-cross" e 30% para as plantas autofecundadas estão de acôrdo um com o outro. Para isso fizemos os seguintes cálculos :

Determinámos em primeiro lugar, qual a segregação de F2 que corresponde a uma segregação gônica de 47% : 53%.

$$\frac{1}{100} (50\% \text{ Su} + 50\% \text{ su}) \text{ ♀} \times (47\% \text{ Su} + 53\% \text{ su}) \text{ ♂} = \\ 73,5\% \text{ Su} - + 26,5\% \text{ susu}$$

Devíamos então esperar 26,5% de grãos doces em vez do valor observado de cêrca de 30%.

Também podemos calcular qual a segregação gônica que corresponde a uma segregação em F2 de 70% Su — para 30% susu :

$$70\% \text{ Su} - + 30\% \text{ susu} = \frac{1}{100} (50\% \text{ Su} + 50\% \text{ su}) \text{ ♀} \times \\ (40\% \text{ su} + 60\% \text{ Su}) \text{ ♂}$$

Assim devíamos ter obtido em “back-crosses” 60% de grãos doces em vez de apenas 53%.

Contrabalançando ambas as determinações, chegámos á seguinte estimativa :

Segregação gônica :	♀	50 %	Su	+	50 %	su
	♂	45 %	Su	+	55 %	su
Segregação zigótica :		72,5 %	Su—	+	27,5 %	susu

Apesar destes pequenos defeitos quantitativos, podemos dizer que os resultados obtidos estão de acôrdo com a nossa expectativa sôbre a ação do gen gametofítico em relação à segregação do gen su — (compare as fórmulas dadas na página 218).

Uma análise completa também foi executada para as espigas, descendentes do cruzamento de plantas *tunicata* da família 86-1942 com milho doce. Os resultados são de um modo geral qualitativa e quantitativamente iguais ao caso anterior, o que fica evidente se compararmos os Quadros 5 e 7. Todavia aparecem numerosas espigas (7 em 56) que são consideradas como exceções, algumas com uma percentagem muito baixa de grãos doces e outras com um excesso considerável dos mesmos.

A explicação da única exceção nos descendentes de 89-1942 e das 7 exceções naqueles da família 86-1942, não pode ser ainda dada. Deve-se frisar aqui que fiquei bastante admirado por ser a segregação do gen *su* tão normal na maioria das espigas, com apenas 8 exceções, em 304 espigas. Não são raros os casos, na minha experiência, nos quais a segregação do gen *su* é complicada por gens modificadores que transformam os grãos da constituição *susu* em tipos "pseudo doces" que às vezes bastante se assemelham fenotipicamente aos grãos duros *Su*. Publicarei os resultados da análise genética das mencionadas exceções logo que ela for terminada. Nessa ocasião discutirei também a literatura correspondente.

Em resumo, podemos aceitar a seguinte conclusão: Existe um gen gametofítico *ga* no cromossômio IV do milho que afeta a segregação do gen *Su/su* do mesmo modo como demonstrado para os fatores *Tu/tu* no capítulo anterior. Foi estudada a segregação de espigas com uma eliminação fraca, que em geral segue a fórmula:

$$\frac{1}{100} (50\% \text{ Su} + 50\% \text{ su}) \text{ ♀} \times (45\% \text{ Su} + 55\% \text{ su}) \text{ ♂} = \\ 72,5\% \text{ Su-} + 27,5 \text{ susu}$$

d) Ligação genética entre *Su/su* e *Tu/tu*

De acôrdo com o sumário de Emerson e colaboradores (1935) a distância entre os dois gens *Tu* e *Su* no cromossômio IV é de 29 centimorgans. Considerando que os dados dos diferentes autores são bastante divergentes, e que ainda era possível que o nosso material sul-americano desse um valor diferente, resolvi fazer uma nova determinação deste valor. Para isso foram escolhidas 6 espigas do "back-cross" feminino do grupo A do Quadro 5. Os grãos duros e doces foram semeados separadamente, e o número e a percentagem de plantas *tutu* (normais) e *Tutu* (*tunicata*) determinado nas 12 famílias obtidas. Os resultados constam no Quadro 8.

Obtivemos num total de 1.217 plantas uma percentagem de "crossing-over" entre *Tu/tu* e *Su/su* de 23,9%, e o X^2 para as famílias individualmente em relação a este valor é bem insignificante ($X^2 = 10,02$ para $nf=11$). O valor de "crossing-over" no nosso material é assim um pouco menor do que aquele dado por EMERSON e colaboradores (1935).

e) **Localização do fator gametofítico e determinação da intensidade da eliminação** — Demonstrámos nos capítulos anteriores que existe um fator gametofítico que causa uma eliminação dos tubos polínicos de modo a provocar distúrbios na segregação dos dois pares de fatores *Tutu* e *Susu*, ambos do cromossômio IV. Como expliquei numa publicação geral sobre tais fatores gametofíticos (BRIEGER 1945a), faltam-nos assim ainda duas determinações: a) o valor do "crossing-over" entre os fatores *Ga/ga* e os fatores *Tu/tu* e *Su/su*; b) o valor da intensidade da eliminação, isto é, a frequência *f* dos tubos polínicos *ga* que conseguem vencer a competição dos tubos *Ga* e fertilizar oosferas.

Fórmulas apropriadas foram desenvolvidas por BRIEGER (1930, 1937, 1945a). Devemos aplicar o que chamei em outro lugar a "two class formula" (BRIEGER 1937a). A fórmula mais geral (BRIEGER 1945a) pode apenas ser aplicada quando a segregação dos dois pares de gens, ligados aos fatores gametofíticos, isto é, no nosso caso *Tu/tu* e *Su/su*, for analisada simultaneamente. Porém agora temos umas famílias que segregam para os fatores *Tu/tu* e outras para os gens *Su/su*.

Para facilitar a compreensão, damos em forma resumida a derivação da fórmula que devemos usar: suponhamos que queremos analisar um "backcross" da fórmula:

aGa *Aga*

—x—, usando ainda as letras *f* para a frequência de *aGa* *aGa*

tubos polínicos *ga*, que conseguem fertilizar, e *c* para o valor de "crossing-over" entre *A/a* e *Ga/g*. Teremos então para a segregação neste backcross":

Constituição	Frequência
<i>Aga/aGa</i>	<i>f</i> . (<i>1-c</i>)
<i>AGa/aGa</i>	(<i>1-f</i>). <i>c</i>
<i>aga/aGa</i>	<i>f</i> . <i>c</i>
<i>aGa/aGa</i>	(<i>1-f</i>). (<i>1-c</i>) .

A frequência total dos heterozigotos dominantes *Aa* será então .

$$(Aa) = f . (1-c) + (1-f) . c \dots\dots\dots 1$$

Supondo que nós analisámos, em outros cruzamentos, a

segregação de um outro par de gens **B/b**, também ligados ao fator gametofítico, teremos do mesmo modo:

$$(Bb) = f(1-c) + (1-f).c \dots\dots\dots 2$$

Devemos ainda lembrar que existe uma simples relação entre os valores de "crossing-over" de três pares de fatores ligados entre si, que é, desprezando os "crossovers" duplos:

$$c(AB) = c(Aga) + c(Bga) \dots\dots\dots 3$$

Assim teremos três equações independentes para a determinação dos três valores e desconhecidos **f**, **c (Aga)** e **c (Bga)**. Somando as fórmulas 1 e 2, substituindo ainda 3 e simplificando, podemos obter facilmente as seguintes soluções:

$$f = \frac{(Aa) + (Bb) - c(AB)}{2 \cdot (1 - c(AB))} \dots\dots\dots 4$$

$$c(Aga) = \frac{(Aa) - f}{1 - 2f} \dots\dots\dots 5$$

$$c(Bga) = c(AB) - c(Aga) \dots\dots\dots 6$$

Podemos agora substituir os valores determinados nos capítulos anteriores para as famílias com uma eliminação fraca:

$$\begin{aligned} (Tutu) &= 0,36 \text{ ou } 36\% \\ (Susu) &= 0,45 \text{ ou } 45\% \\ c(TuSu) &= 0,249 \text{ ou } 24,9\% \end{aligned}$$

$$f = \frac{0,36 + 0,45 - 0,249}{2 \cdot (1 - 0,249)} = 0,3735 \text{ ou } 37,4\%$$

$$c(Tu ga) = \frac{0,36 - 0,3735}{(1 - 0,7470)} = 0,053 \text{ ou } 5,3\%$$

$$c(Su ga) = 0,249 - (-0,053) = 0,302 \text{ ou } 30,2\%$$

Assim chegámos à conclusão que a ordem dos gens é a seguinte : (Ga) — 5,3 — (Tu) — 25,9 — (Su). Devemos comparar estes resultados com o mapa geral dos cromossômio IV, dado em outra publicação (BRIEGER 1945). Já eram conhecidos dois outros fatores que causam uma competição gametofítica e que são colocados no cromossômio IV : os gens Ga 1 e Sp 1.

O mapa demonstra claramente que o fator descrito nesta publicação é localizado em outro lugar do cromossômio, não podendo ser idêntico a um dos dois antigos. Por isso damos a ele agora a denominação Ga4/ga4.

Voltamos mais uma vez à questão da intensidade da eliminação causada pelo fator que agora chamamos ga4. Determinámos acima que nas linhagens com uma eliminação fraca 37,4% tubos polínicos ga4 e 62,6% Ga4 estão normalmente funcionando. Podemos igualmente calcular a frequência f para as linhagens de uma eliminação forte, usando os valores que constam dos Quadros 2 e 3. A fórmula que aplicaremos podemos facilmente derivar da nossa equação 1:

$$f = \frac{(Tutu) - c(Tuga)}{1 - 2c(Tuga)} = \frac{0,12 - 0,053}{1 - 0,106} \cdot \frac{0,067}{0,894} = 0,075 \text{ ou } 7,5\%$$

Assim temos o seguinte resultado:

Eliminação fraca: 37,4% ga + 62,6% Ga

Eliminação forte: 7,5% ga + 92,5% Ga

III — *Tunicata* Boliviano

Pelas razões expostas, os estudos com milho *tunicata* da Bolívia eram muito menos extensos. Um indivíduo *tunicata* de semente original, quando autofecundado, deu 18 plantas, sendo 14 *tunicata* e 4 normais. Cruzando alguns destes com milho doce obtive 43 plantas, das quais 21 indivíduos ou 49% do total eram *tunicata*. A segregação do gen doce na geração seguinte não deu indicação de qualquer complicação ou da presença de fatores gametofíticos, tendo sido analisadas 28 espigas com 4.004 grãos (Quadro 9).

TuSu

Duas plantas heterozigotas ————— foram polinizadas com
tusu
volên de indivíduos duplamente recessivos tutu susu para a de-

terminação da ligação genética e deram, num total de 345 plantas, 126 indivíduos ou 36,5% "crossover". Os valores por família eram bastante diferentes: 42,3% (n=215) e 26,9% (n=130).

O valor de 26,9% não é diferente nem do valor dado por EMERSON, BEADLE AND FRASER (1935) de 29%, nem do valor obtido nesta publicação na análise do *Tunicata Paulista* de 24,9%. O valor de 42,3% porém é estatisticamente diferente destes valores, mas corresponde aos valores mais altos, obtidos em outro material e registrados também por EMERSON, BEADLE AND FRASER (1935). Assim está comprovado que o milho *Tunicata Boliviano* contém o mesmo gen *Tu* no cromossômio IV como todos os outros tipos de milho *tunicata* até hoje estudados.

IV — RESUMO

1) O milho *Tunicata Paulista* difere dos milhos comuns com grãos descobertos, pela presença de um simples gen dominante *Tu*, localizado no cromossômio IV, cerca de 25 centimorgans distante do gen doce *sul*.

2) A expressão fenotípica deste gen é muito variável, em dependência em grande parte da presença ou ausência de modificadores, podendo-se mudar por isso a sua expressão fenotípica pela seleção dos modificadores.

3) A segregação do milho *Tunicata Paulista* é complicada pela ação de um novo gen gametofítico, designado pelo símbolo *ga4*. Todos os demais tipos de milho usados em nossos estudos tinham a constituição homocigota para o gen *Ga4*. O gen *ga4* provoca uma competição de tubos polínicos em heterocigotos, de modo que a maioria dos tubos com o gen *ga4* é eliminada. Este gen não tem efeito algum nos megasporios ou sacos embrionários ou zigotos.

4) O novo gen *ga4* é diferente do gen *gal*, no cromossômio IV, pois está localizado em lugar diferente no mapa genético, e não pode ser confundido com o gen para diferenças do tamanho do pólen *sp*, tanto pela sua localização no mapa como pela ausência de qualquer diferença de tamanho nos grãos de pólen.

5) Com o emprêgo das fórmulas de BRIEGER, as seguintes determinações podiam ser feitas:

Em linhas com eliminação fraca, cerca de 37% de tubos *ga4* estão fertilizando oosferas em vez de 50%, e em plantas

com uma eliminação forte, funcionam apenas 8% em vez de 50%.

Existem cerca de 30% de "crossing-over entre o gen doce (Su/su) e o fator gametofítico, e cerca de 5% entre o gen Tu e o fator gametofítico. A ordem dos gens no cromossômio IV é: Ga4 — Tu — Su1.

6) Em milho *Tunicata Boliviano*, que contém o mesmo gen Tu, como todos os demais tipos de milho *tunicata*, nenhuma complicação da segregação foi observada, nem com referência ao gen Tu/tu ou ao gen Su/su.

ABSTRACT

The study of pod corn seems still of much importance from different points of view. The phylogenetical importance of the *tunicate* factor as a wild type relic gene has been recently discussed in much detail by MANGELSDORF and REEVES (1939), and by BRIEGER (1943, 1944a e b). Selection experiments have shown that the pleiotropic effect of the Tu factor can be modified very extensively (BRIEGER 1944a) and some of the forms thus obtained permit comparison of male and female inflorescences in corn and related grasses. A detailed discussion of the botanical aspect shall be given shortly. The genetic aspect, finally, is the subject of the present publication.

Pod corn has been obtained twice: **São Paulo Pod Corn** and **Bolivia Pod Corn**. The former came from one half ear left in our laboratory by a student and belongs to the type of corn cultivated in the State of São Paulo, while the other belongs to the Andean group, and has been received both through Dr. CARDENAS, President of the University at Cochabamba, Bolivia, and through Dr. H. C. CUTLER, Harvard University, who collected material in the Andes.

The results of the studies may be summarized as follows:

1) In both cases, pod corn is characterized by the presence of a dominant Tu factor, localized in the fourth chromosome and linked with su1. The crossover value differs somewhat from the mean value of 29% given by EMERSON, BEADLE and FRAZER (1935) and was 25% in 1217 plants for São Paulo Pod Corn and 36,5% in 345 plants for Bolivia Pod Corn. However not much importance should be attributed to the quantitative differences.

2) Segregation was completely normal in **Bolivia Pod Corn** while **São Paulo Pod Corn** proved to be heterozygous for a new

gametophyte factor, designated as **ga4**. All other types of corn used in our crosses, such as indigenous corn from Brazil (Chavantes e Acre), from Peru and Bolivia, and the newly obtained Brazilian Sweet Corn (BRIEGER, in Maize letters) are homozygous **Ga4/Ga4**.

3) Using BRIEGER'S formulas (1930, 1937a, 1937b) the following determinations were made.

a) the elimination of **ga4** pollen tubes may be strong or weak. In the former case only about 8% and in the latter 37% of **ga4** pollen tubes function, instead of the 50% expected in normal heterozygotes.

b) There is about 30,4% crossing-over between **su1** and **ga4** and 5,3% between **Tu** and **ga3**, the order of the factors being **Su 1 — Tu — Ga4**.

4) The new gametophyte factor differs from the two others factors in the same chromosome, causing competition between pollen tubes. The factor **Ga1**, occupies another locus, considerably to the left of **Su1** (EMERSON, BEADLE AND FRAZSER, 1935). The gene **sp1** occupies another locus and causes a difference of the size of the pollen grains, besides an elimination of pollen tubes, while no such differences were observed in the case of the new factor **Ga4**.

5) It may be mentioned, without entering into a detailed discussion, that it seems remarkable that three of the few gametophyte factors, so far studied in detail are localized in chromosome four. Actually there are a few more known (BRIEGER, TIDBURY AND TSENG 1938), but only one other has been localized so far, **Ga2**, in chromosome five between **bt1** and **pr1**. (BRIEGER, 1935).

6) The fourth chromosome of corn seems to contain other peculiarities still. MANGELSDORF AND REEVES (1939) concluded that it carries two translocations from *Tripsacum* chromosomes, and BRIEGER (1944b) suggested that the **tu** allele may have been introduced from a tripsacoid ancestor in substitution of the wild type gene **Tu** at the beginning of domestication. Serious disturbances in the segregation of fourth chromosome factors have been observed (BRIEGER, unpublished) in the hybrids of Brazilian corn and Mexican teosinte, caused by gametophytic and possibly zygotic elimination.

Future studies must show whether there is any relation between the frequency of factors, causing gametophyte elimination and the presence of regions of chromosomes, transferred either from *Tripsacum* or a related species, by translocation or crossing-over.

LITERATURA

- 1 — BRIEGER, F. G. 1930 — Selbsterilität und Kreckzgunugs sterilität. Berlin. Springer, 395 pg.
- 2 — BRIEGER, F. G. 1937a — Genetic control of gametophyte development in maize I A gametophyte factor in chromosome five. *Journal of Genetics*. 34: 58-80.
- 3 — BRIEGER F. G. 1937b — Methoden der Erforschung der Verebnungs vorgänge bei Pflanzen. *Handbuchbiol. Arbeit-smethoden*. (Abderhalden). IX 3: 1183-1308.
- 4 BRIEGER, F. G. 1043 — Origem do milho. *Semana da Ge-nética. Rev. Agr.* 16: 409-418.
- 5 — BRIEGER, F. G. 1944a — Considerações sobre o meca-nismo da evolução. *Anais da Escola Sup. Agr. "Luiz de Queiroz"*. 1: 177-211.
- 6 — BRIEGER, F. G. 1944b — Estudos experimentais sobre a origem do milho. *Anais da Esc. Sup. Agr. "Luiz de Quei-roz"*. 1: 225-278.
- 7 BRIEGER, F. G. 1945 — A ação de gens gametofíticos, com referência especial ao milho. *Anais da Esc. Sup. Agr. "Luiz de Queiroz"*. 2. (em impressão).
- 8 — BRIEGER, F. G., E. TIDBURY AND H. P. TSENG. 1938 — Genetic control of gametophyte development in maize. II The Quarter test. *Journal of Genticis*, 36: 17-38.
- 9 — COLLINS, G. N. 1917a. — Hybrids of *Zea ramosa* and *Zea tunicata*. *Jour. Agr. Res.* 9: 383-395.
- 10 — COLLINS, G. N. 1917a. — Hybrids of *Zea tunicata* and *Zea ramosa*. *Nat. Acad. Sc. Proc. (U.S.A.)* 3: 345-349.
- 11 — EMERSON, R. A., G. W. BEADLE and A. C. FRASER 1935 — A summary of linkage studies in maize. *Cornell Univ. Agr. Exp. Sta.* 180: 83 pgs.
- 12 — EYSTER, W. H. 1934 — The genetics of *Zea Mays*. *Bibl. Gen.* 11: 187-392.
- 13 — HOROWITZ, S., A. H. MARCHONI y H. G. FISHER 1943 — El factor *Sux* y el aumento del contenido de azucar en el maiz para choclo. *An. Inst. Fitotecnico. Santa Catalina.* 3: 37-44.
- 14 — MANGELSDORF, P. C. and R. G. REEVES 1939 — The origin of indian corn and its relatives. *Texas Agr. Sta.* 574: 315 pg.
- 15 — MATSUURA, H. 1933 — A bibliographical monograph on plant genetics. 787 pg.
- 16 — SAINT-HILAIRE, A. de, 1829 — Letre sur une variété remarquable de maiz du Bresil. *An. Sc. Nat. Paris.* 16: 143-145.

Quadro 1**BACKCROSS FÊMEA**

Familia	Total Plantas	Tutu		X ² (50%)
		Número	%	
Cruzamento com Chavantes				
8 - 1941	6	5	—	—
Cruzamento com Acre				
11 - 1941	29	14	38,3	0,03
Cruzamento com Bolívia				
21 - 1941	2	1	—	—
Cruzamento com Perú				
603 - 1942	92	52	56,5	1,56
9 - 1941	28	11	39,3	1,29
12-15 - 1941	26	12	46,2	0,15
19 - 1941	7	4	—	—
22 - 1941	13	6	46,2	0,08
23-24 - 1941	6	1	—	—
25 - 1941	15	6	40,0	0,60
28-32 - 1941	27	11	40,7	0,93
Cruzamento com Doce Brasileiro				
710-712 - 1932	98	51	52,0	0,02
930-931 - 1943	160	84	52,5	0,40
932-933 - 1943	269	148	55,0	2,71
934-935 - 1943	236	121	51,3	0,04
936-937 - 1943	237	120	50,6	0,35
938-939 - 1943	53	26	49,1	0,02
940-941 - 1943	262	134	51,2	1,39
Todos 18 espigas	1566	807	51,5 X ² = 1,41 nf = 1	9,57 nf = 14

QUADRO 2

BACKCROSS MACHO tutu x Tutu	N. Plantas	Números		o/o		X ² (50 o/o)	X ² 12 o/o	X ² 36 o/o	X ² 50,0%/o	Constituição Eliniação Fórmula
		Tu	tu	Tu	tu					
820-822 — 1941 = 14-9 x 30-11 1941	97	7	90	7,1	92,9	71,41	2,20	—	—	
828 — 1941 = 18-11 x 2-3 1941	92	7	85	7,6	92,4	66,16	1,69	—	—	
829 — 1941 = 4-5 x 19-3 1941	93	11	82	11,8	88,2	63,58	0,00	—	—	forte
823 — 1941 = 8-25 x 17-20 1941	94	16	78	17,0	83,0	40,95	2,22	—	—	Tu ga
827 — 1941 = 16 x 14-25 1941	96	17	79	17,7	82,3	40,06	2,95	—	—	tu Ga
824-826 — 1941 = 11-1 x 2-2 1941	291	110	181	37,5	62,5	18,2	—	0,28	—	fraco
602 — 1942 =										
601 — 1942 = 2-15 x 26-11 1941	159	77	82	48,4	51,6	0,16	—	—	0,26	Tu Ga tu ga
598 — 1942 = 1-26 x 6-25 1941	191	99	92	51,8	48,2	0,25	—	—	0,25	Tu Ga tu ga
600-8-9 — 1942 = 13-9 x 23-11 1941	134	89	45	66,4	33,6	14,59	—	0,34	—	fraco Tu Ga
599 — 1942 = 29-9 x 1-3 1941	124	111	13	89,5	10,5	87,39	0,26	—	—	forte tu ga
Total 10 famílias	1.444	597	847	41,3	58,7		9,34	0,62	0,41	
				X ² =50,60	nf = 1		nf=5	nf=1	nf=1	

QUADRO 3

F2 : Tutu (*)	n	Números				o/o		X ²	Média dos Grupos		X ²		Constituição	
		Plan-tas		tu		Tu	tu		Tu obs.	esp.	Espigas	Médias	Elimi-nação	Fór-mula
		Tu	tu	Tu	tu	25 o/o								
95 - 97 - 1940 = 1 A.G. - 1939 (*)	58	26	32	44,9	55,1	28,03		49,5	56,0	2,86	1,80	forte	Tuga	
98 - 1940 = 2 A.G. - 1939 (*)	24	13	11	54,2	45,8	5,54		56,0	0,02	0,00			tuGa	
1 - 1941 = 4-103 - 1940 (*)	23	13	10	56,5	43,5	4,20								
604 - 1942 = 17-9 - 1941 (*)	57	39	18	68,4	31,6	1,32				0,00	0,77	fraco	tuGa	
605 - 1942 = 4-30 - 1941 (*)	83	58	25	69,9	30,1	1,15		70,7	68,0	0,14				
89 - 1942 = 17-25x12-32 - 1941	73	53	20	72,6	27,4	0,22				0,71				
86 a 88 - 1942 = 19-15x 3-12 - 1941	16	12	4	75,0	25,0	0,00				0,36				
607 - 1942 = 2-9 - 1941 (*)	123	94	29	76,4	23,6	0,13				0,13			TuGa Tuga	
606 - 1942 = 7-22 - 1941 (*)	130	100	30	77,0	23,0	0,28		76,7	75,0	0,28	0,01		tuGa tuga	
85 - 1942 = 15x20 - 20 - 1941	15	13	2	86,7	13,3	1,09		86,7	82,0	0,22	0,22	fraco	TuGa	
16 a 18 - 1941 = 10x11 - 101 - 1940	12	11	1	91,7	8,3	1,78		91,7	94,0	0,11	0,11	forte	tuga	
Total 11 famílias	541	379	162	70,1	29,9	48,74				4,83	2,91			
(*) Autofecundado.				X ² =5,24	nf=11					nf=11	nf=5			

Quadro 4

N 1943	n	Plantas Tunicata Número	o/o	X ² (50 o/o)	X ² (41 o/o)
-----------	---	----------------------------	-----	----------------------------	----------------------------

Doce x Tunicata Paulista 86 — 1942

703	12	6	50,0	—	—
704	19	10	52,6	0,05	—
Soma	31	16	51,6 X ² = 0,03 nf = 1	0,05	—

Doce x Tunicata Paulista 89 — 1942

705	49	22	44,9	0,51	0,31
706	49	18	36,7	3,47	0,38
707	23	12	52,6	0,06	1,29
708	22	6	27,3	4,53	1,72
709	50	21	42,0	1,28	0,02
Soma	193	79	40,9 X ² = 7,39 nf = 1	9,85 nf = 5	3,72 nf = 4

Tunicata Paulista 89 — 1912 x Doce

710	50	25	50,0	0,00	—
711	24	16	66,7	2,68	—
712	24	10	41,7	0,66	—
Soma	98	51	52,4 X ² = 0,22 nf = 1	3,32 nf = 3	—

QUADRO 5
TUNICATA PAULISTA
Descendentes de 89-1942

Famílias 705 a 712 1943 Formula	Total		Açucar		Total		Espigas individuais	
	Espigas	Grãos	n	o/o	X2	nf	X2	nf
					X² (50%)			
A Tu - Su tu Ga su x tu Ga su	33	4.576	2.279	49,80	0,07	1	48,45	32
tu - su tu Ga su Exceções								
2-706 x 23-713	1	64	45	70,3	—	—	10,55	1
21-706 x 17-713	1	116	88	75,9	—	—	32,12	1
					X² (50%)			
B tu - Su tu Ga su x tu Ga su	5	1.425	727	51,02	0,59	1	3,23	4
tu - su tu Ga su								
					X² (53%)			
C tu Ga su Tu ga Su x tu Ga su	48	10.401	5.570	53,55	0,80	1	47,46	48
tu Ga su tu Ga su Cross-over:								
tu Ga su Tu Ga Su x tu Ga su	3	869	398	45,80	6,13	1	6,29	3
tu Ga su tu Ga su								
					X² (30%)			
D Tu ga Su (*)	30	4.092	1.255	30,66	0,85	1	17,12	30
tu Ga su Cross-over:								
Tu Ga Su (*)	10	1.792	71	20,70	17,67	1	23,80	10
tu Ga su								
					X² (25%)			
E tu Ga Su (*)	197	30.148	7.591	25,18	0,52	1	107,10	107
tu Ga su Cross-over:								
tu ga Su (*)	10	2.660	845	31,77	3,97	1	5,19	10
tu Ga su								

Total contado: Espigas 248, grãos 56.143

(*) Autofecundado

QUADRO 6

(C)		tuSu		(D)		tuSu		(E)		tuSu		TÓDAS	
Intervalo		\bar{d} (53 o/o)		Intervalo		\bar{d} (30 o/o)		Intervalo		\bar{d} 25 o/o		obs. esp	
tuSu	X	obs.	esp.	tuSu	tuSu	obs.	esp.	tuSu	tuSu	obs.	esp.	obs.	X ²
+3,0 a 3,5	1	0,1		+3,0 a 3,5	—	0,1		—3,0 a 3,5	—	0,1		1)	
+2,5 a 3,0	—	0,2		+2,5 a 3,0	1	0,2		—2,5 a 3,0	—	0,6		2)	1,25
+2,0 a 2,5	—	0,8		+2,0 a 2,5	2	0,7		—2,0 a 2,5	—	1,9		4)	
+1,5 a 2,0	4	2,2		+1,5 a 2,0	3	1,8		—1,5 a 2,0	5	5,2		12)	0,85
+1,0 a 1,5	4	4,7		+1,0 a 1,5	1	3,7		—1,0 a 1,5	7	10,7		12)	2,64
+0,5 a 1,0	9	7,7		+0,5 a 1,0	1	6,0		—0,5 a 1,0	12	17,6		22)	2,71
0,0 a 0,5	4	9,8		0,0 a 0,5	6	7,7		0,0 a 0,5	22	22,4		32)	1,53
—0,5 a 0	11	9,8		—0,5 a 0	6	7,7		+0,5 a 0	25	22,4		42)	1,22
—1,0 a 0,5	9	7,7		—1,0 a 0,5	4	6,0		+1,0 a 0,5	14	17,6		27)	0,57
—1,5 a 1,0	5	4,7		—1,5 a 1,0	2	3,7		+1,5 a 1,0	11	10,7		18)	0,06
—2,0 a 1,5	1	2,2		—2,0 a 1,5	4	1,8		+2,0 a 1,5	8	5,2		13)	1,57
—2,5 a 2,0	2	0,8		—2,5 a 2,0	3	0,7		+2,5 a 2,0	7	1,9		12)	
—3,0 a 2,5	1	0,2		—3,0 a 2,5	4	0,2		+3,0 a 2,5	3	0,6		8)	
—3,5 a 3,0	—	0,1		—3,5 a 3,0	2	0,1		+3,5 a 3,0	—	0,1		2)	73,60
—4,0 a 3,5	—	—		—4,0 a 3,5	—	—		+4,0 a 3,5	—	—		—)	
—4,5 a 4,0	—	—		—4,5 a 4,0	1	—		+4,5 a 4,0	—	—		1)	
Soma	51	51,0		Soma	40	40,4		Soma	117	117,0		208	86,0
—4,5 a 2,0	3	1,1		—4,5 a 2,0	10	1,0		+4,5 a 2,0	10	2,6		23)	73,60
—4,5 a 2,5	1	0,3		—4,5 a 2,5	7	0,3		+4,5 a 2,5	3	0,7		11)	—
—4,5 a 3,0	—	0,1		—4,5 a 3,0	3	0,1		+4,5 a 3,0	—	0,1		3)	—

QUADRO 7
TUNICATA PAULISTA

Famílias 703 a 704*— 1943 Fórmula	Total		Açúcar		Total		Espigas Individuais	
	Espigas	Grãos	n	o/o	X ²	nf	X ²	nf
A					X² (50%)			
Tu - Su	tu	Ga su						
<u> </u> x <u> </u>	18	2.768	1.345	48,59	2,29	1	24,2	18
tu - su	tu	Ga su						
Exceção (1-703 x 20-715)	1	147	55	37,4	—	—	9,36	1
B					X² (50%)			
tu - Su	tu	Ga su						
<u> </u> x <u> </u>	3	1.050	501	47,71	2,20	1	2,66	3
tu - su	tu	Ga su						
Exceção (24-703-1943)	1	400	161	40,2	—	1	15,21	1
C					X² (50%)		X² (53%)	
tu Ga su	Tu ga Su							
<u> </u> x <u> </u>	15	3.514	1.903	54,16	31,42	1	17,65	15
tu Ga su	tu Ga su							
Exceções:								
32-714 x 16-703	1	267	111	41,57	—	—	13,88	1
9-715 x 4-703	1	233	97	41,63	—	—	12,11	1
8-714 x 13-703	1	316	195	61,71	—	—	9,57	1
19-714 x 10-703	1	132	102	77,27	—	—	31,18	1
11-714 x 4-703	1	158	127	80,38	—	—	41,45	1
D					X² (25%)			
tu Ga Su								
<u> </u>	9	2.897	730	25,20	0,06	1	12,17	9
tu Ga su								
<u> </u>								
tu ga Su								
<u> </u>	4	1.565	507	32,40	4,77	1	6,15	4

Total contado: 56 espigas, 13.447 grãos

QUADRO 8
TUNICATA PAULISTA

1942		Total	Cross-over			
N.º	Constituição		Constituição	n	o/o	X ² (23,9º/o)
931	Su su	81	tu tu	19	23,5	0,01
930	su su	79	Tu tu	22	27,8	0,67
932	Su su	149	tu tu	27	18,1	2,75
933	Su su	120	Tu tu	26	21,7	0,33
934	Su su	125	tu tu	31	24,8	0,05
935	Su su	111	Tu tu	28	25,2	0,11
936	Su su	123	tu tu	27	22,0	0,26
937	su su	114	Tu tu	24	21,0	0,51
938	Su su	17	tu tu	5	29,4	0,28
939	su su	36	Tu tu	14	38,9	4,44
940	Su su	138	tu tu	36	26,1	0,36
941	su su	124	Tu tu	32	25,8	0,25
Soma		1217	— —	291	23,9	10,02

nf = 11

QUADRO 9
TUNICATA BOLIVIANO

Famílias 701 a 702 — 1943 Fórmula	Total		su su		Total		Espigas Individ	
	Espigas	Grãos	n	o/o	X2	nf	X2	nf
A					X² (50%)			
$\frac{\text{Tu Ga Su}}{\text{tu Ga Su}} \times \frac{\text{tu Ga su}}{\text{tu Ga su}}$	4	699	338	48,35	0,76	1	0,95	4
C					X² (50%)			
$\frac{\text{tu Ga su}}{\text{tu Ga su}} \times \frac{\text{Tu Ga Su}}{\text{tu Ga su}}$	8	666	339	50,90	0,22	1	13,32	8
E					X² (25%)			
$\frac{\text{tu Ga Su}}{\text{tu ga su}}$	16	2.639	636	34,10	1,14	1	23,45	16

Total contado: 28 espigas, 4.004 grãos