VARIAÇÕES DO VALOR DE «LINKAGE»

E. A. GRANER

Escola Superior Agricultura «Luiz de Queiroz» da Universidade de S. Paulo

Sabemos que o valor de "linkage" póde variar segundo determinadas circunstâncias. São bem conhecidos os trabalhos de PLOUGH com Drosophila, mostrando o efêito da temperatura, os trabalhos sobre o gen "gowen" que suprime por completo o "crossing-over" nas fêmeas e o efêito de outros modificadores tambem de natureza genética. Além do efêito do meio e dos modificadores, o valor de "linkage" póde estar sujeito a outras fontes de variação, como por exemplo as dificuldades da determinação, ficando assim dependendo do jogo do acaso.

E' levando em consideração este ultimo que procuraremos discutir os resultados da presente experiência.

***

No milho, um gen para não coloração da semente é dominante sobre o seu alele para coloração preta, ambos sendo representados pela notação $Ci > C$. Assim, todas as plantas de constituição Ci — terão as sementes brancas, enquanto que uma planta de constituição C C terá sementes pretas. Ha tambem um gen que determina o enrugamento ou não das sementes, segundo a notação $Sh > sh$; todas as plantas de constituição Sh — terão sementes lisas, enquanto que as plantas de constituição shsh terão sementes enrugadas. Estes típos de sementes podem facilmente ser verificados na figura inclusa. Os dois gens acima referidos estão situados no mesmo cromosômio, o cromosômio n.º IX. O valor de "linkage" entre êles foi já bem estudado e por exemplo BRIEGER (*) dá para valor de c 5,01%.

O material, selecionado como ótimo para fins didáticos, foi trazido para o Brasil pelo Prof. F. G. Brieger e na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" plantado afim de fornecer espigas para aulas praticas. Desde o primeiro momento tornou-se interessante saber qual seria a reação desses gens no novo ambiente para o qual foram trazidos. Procedemos porisso a uma análise detalhada de 18 espigas colhidas em nosso campo experimental, num total de 4217 sementes F2 e os resultados estão contidos nos dois quadros anexos, sendo discutidos a seguir.

***

As sementes analisadas constituem a geração F2 de um cruzamento na forma "coupling", isto é, cruzamento de uma planta com os dois gens dominantes $\frac{Ci\ Sh}{Ci\ Sh}$ (sementes brancas e lisas) com umá planta que reunia os aleles correspondentes na forma recessiva $\frac{C\ sh}{C\ sh}$ (sementes pretas e enrugadas). Tratando-se de dois gens dominantes, as plantas da geração F_1 tinham sementes brancas e lisas e eram heterozygotas $\frac{Ci\ Sh}{C\ sh}$: estas plantas foram autofecundadas afim de produzir espigas, as quais foram então analisadas.

Na primeira colúna do quadro I estão contidos os numeros das espigas (N.º do individuo, n.º da familia e o ano). Na segunda colúna o numero total de sementes para cada espiga analisada separadamente. A seguir encontramos três colúnas onde estão contidos os dados referentes ás quatro classes esperadas, ou seja, na ordem do quadro, sementes brancas e lisas (os dois gens dominantes em conjunto); sementes bran-

(*) *Journal of Genetics, vol. 36:17-38, 1938.*

cas e enrugadas (um gen dominante e outro recessivo, nova combinação obtida pelo "crossing-over"); sementes pretas e lisas (tambem um gen dominante com o outro recessivo, a outra combinação obtida por meio do "crossing-over") e finalmente sementes pretas e enrugadas, (os dois gens recessivos em conjunto). Uma vez que as frequencias esperadas para as duas classes novas, obtidas em virtude do "crossing-over", são iguais, reunimos essas duas classes em uma só, afim de que o numero eperado pudesse ser sempre maior do que 5; poderiamos assim fazer uma análise pelo "χ^2-test" sem qualquer hesitação. As sementes brancas e enrugadas e as sementes pretas e lisas passaram então a constituir uma única classe. Nessas três colunas encontramos agora os numeros observados e os esperados. O valor de *c* para cada espiga foi calculado pela formula dos produtos de FISHER, $\frac{Ab \times aB}{AB \times ab}$ (*) e a colúna seguinte contém então os quocientes obtidos pelo produto das duas classes "crossover" dividido pelo produto das duas classes não "crossover". De posse desses quociente e da tábua n.° 15 de BRIEGER, determinamos o valor de *c* para cada uma das espigas, fezendo sempre que necessário, uma interpolação. Êstes valores estão contidos na colúna seguinte, na ordem crescente. Podemos verificar que a variação de *c* foi grande, indo de 2,23% a 6,63%. Vemos ainda que cada espiga apresentou um valor de *c* diferente.

Devemos agora examinar se as classes observadas, para cada espiga, estavam bem distribuidas; calculamos para isso as frequências esperadas, segundo cada valor de *c*, utilisando para esse fim a tabua n.° 16 de BRIEGER, com as necessárias interpolações e transformando depois os valores em numeros. De posse das frequências observadas e esperadas, fizemos então um χ^2 para cada classe, segundo a fórmula

---

(*) *BRIEGER, F. G. (1937) Tábuas e Fórmulas para estatística. Cia. Melhoramentos de S. Paulo.*

Q U A D R O I

NUMERO DA ESPIGA	Numero Sementes	$C^i > C$ $Sh > sh$ — C^i— Sh — Branco liso: Observado	Esperado	C^i— shsh e CC Sh— Branco enrugado + Colorido liso: Observado	Esperado	CCshsh Colorido enrugado: Observ.	Esperado	$\frac{Ab \times aB}{AB \times ab}$	c°/₀	χ^2: Branco liso	Branco enrug. + Colorido liso	Colorido enrug.	$\Sigma \chi^2$ horizontal
7-211/1937	169	116	124,89	5 (1 mais 4)	3,72	48	40,39	0,000718	2,23	0,6328	0,4404	1,4338	2,5070
4-211/1937	269	212	197,96	8 (2 mais 6)	7,59	49	63,46	0,001155	2,85	0,9958	0,0221	3,2949	4,3128
10-211/1937	228	176	167,76	17 (8 mais 9)	6,48	35	53,76	0,001169	2,87	0,4047	17,0788	6,5465	24,0300
3-211/1937	212	154	155,27	9 (7 mais 2)	7,46	49	49,27	0,001855	3,58	0,0104	0,3179	0,0015	0,3298
5-211/1937	165	116	120,70	7 (2 mais 5)	6,10	42	38,20	0,002052	3,77	0,1830	0,1328	0,3780	0,6938
14-211/1937	308	218	224,84	13 (8 mais 5)	12,32	77	70,84	0,002383	4,09	0,2081	0,0375	0,5357	0,7813
11-211/1937	233	163	170,16	10 (4 mais 6)	9,18	60	53,66	0,002454	4,12	0,3013	0,0732	0,7491	1,1236
13-211/1937	249	190	181,62	10 (4 mais 6)	10,26	49	57,12	0,002578	4,21	0,3866	0,0066	1,1543	1,5475
1-211/1937	218	163	158,94	9 (4 mais 5)	9,11	46	49,94	0,002667	4,28	0,1037	0,0013	0,3108	0,4158
15-211/1937	202	164	147,06	9 (2 mais 7)	8,89	29	46,06	0,002944	4,49	1,9513	0,0014	6,3188	8,2715
12-211/1937	206	150	149,91	10 (3 mais 7)	9,19	46	46,91	0,003043	4,56	0,0000	0,0714	0,0177	0,0891
17-211/1937	279	202	203,00	12 (3 mais 9)	12,50	65	63,50	0,002056	4,59	0,0049	0,0200	0,0354	0,0603
6-211/1937	167	121	121,33	8 (5 mais 3)	7,72	38	37,83	0,003262	4,72	0,0009	0,0102	0,0008	0,0119
11-47/1937	354	255	257,11	17 (8 mais 9)	16,78	82	80,11	0,003443	4,86	0,0173	0,0029	0,0446	0,0648
2-211/1937	150	116	108,73	7 (3 mais 4)	7,53	27	33,73	0,003831	5,14	0,4861	0,0373	1,3428	1,8662
8-211/1937	293	226	212,22	14 (6 mais 8)	15,06	53	65,72	0,004007	5,27	0,8948	0,0075	2,4619	3,3642
16-211/1937	266	208	191,12	15 (6 mais 9)	16,76	43	58,12	0,006038	6,51	1,4909	0,1848	3,9335	5,6092
9-211/1937	249	189	179,28	14 (7 mais 7)	16,48	46	54,78	0,005636	6,63	0,5270	0,3732	1,4072	2,3074
								$\Sigma \chi^2$ vertical		8,5996	18,8193	29,9673	57,3862

		Observado	Esperado	Observ.	Esper.	Ob.	Esp.	Obsev.	Esperado	$\frac{Ab \times aB}{AB \times ab}$	c°/₀	χ^2				$\Sigma \chi^2$ horiz.
Total de espigas	4217	3139	3064,49	83	98,26	111	98,26	884	955,99	0,003320	4,77	1,8116	2,3699	1,6518	5,4211	11,2544
Total espigas menos a de n.o 10-211	3989	2963	2902,80	75	88,95	102	88,95	849	908,30	0,003041	4,56	1,2485	2,1878	1,9146	3,8715	9,2224

QUADRO II

NUMERO DA ESPIGA	Numero sementes	$C^i > C$ $Sh > sh$ C^i — Sh — Branco liso Observado	Esperado	C^i —shsh e CCSh — Branco enrugado + Colorido liso Observado	Esperado	CCshsh Colorido enrugado Observ.	Esperado	c %	χ^2 Branco liso	B. enrugado + C. liso	Colorido enrugado	$\Sigma\chi^2$ horizontal
7-211/1937	169	116	122,78	5 (1 mais 4)	7,89	48	38,33	4,77	0,3744	1,0586	2,4396	3,8726
4-211/1937	269	212	195,43	8 (2 mais 6)	12,56	49	61,00	4,77	1,4049	1,6555	2,3607	5,4211
10-211/1937	228	176	165,64	17 (8 mais 9)	10,65	35	51,71	4,77	0,6480	3,7862	5,3998	9,8340
3-211/1937	212	154	154,02	9 (7 mais 2)	9,90	49	48,08	4,77	0,0000	0,0082	0,0176	0,0258
5-211/1937	165	116	119,87	7 (2 mais 5)	7,71	42	37,42	4,77	0,1249	0,0654	0,5606	0,7509
14-211/1937	308	218	223,76	13 (8 mais 5)	14,38	77	69,85	4,77	0,1483	0,1324	0,7319	1,0126
11-211/1937	233	163	169,27	10 (4 mais 6)	10,88	60	52,84	4,77	0,2322	0,0718	0,9702	1,2742
13-211/1937	249	190	180,90	10 (4 mais 6)	11,63	49	56,47	4,77	0,4578	0,2285	0,9882	1,6745
1-211/1937	218	163	158,38	9 (4 mais 5)	10,18	46	49,44	4,77	0,1348	0,1368	0,2394	0,5110
15-211/1937	202	164	146,75	9 (2 mais 7)	9,43	29	45,81	4,77	2,0277	0,0196	6,1684	8,2157
12-211/1937	206	150	149,66	10 (3 mais 7)	9,62	46	46,72	4,77	0,0008	0,0150	0,0111	0,0269
17-211/1937	279	202	202,69	12 (3 mais 9)	13,03	65	63,23	4,77	0,0023	0,0814	0,0495	0,1332
6-211/1937	167	121	121,33	8 (5 mais 3)	7,80	38	37,88	4,77	0,0009	0,0051	0,0038	0,0098
11-47/1937	354	255	257,18	17 (8 mais 9)	16,53	82	80,29	4,77	0,0185	0,0134	0,0364	0,0683
2-211/1937	150	116	108,97	7 (3 mais 4)	7,00	27	34,03	4,77	0,4535	0,0000	1,4523	1,9058
8-211/1937	293	226	212,86	14 (6 mais 8)	13,68	53	66,45	4,77	0,8111	0,0075	2,7224	3,5410
16-211/1937	266	208	193,25	15 (6 mais 9)	12,42	43	60,33	4,77	1,1258	0,5359	4,9781	6,6398
9-211/1937	249	189	180,90	14 (7 mais 7)	11,63	46	56,47	4,77	0,3627	0,4830	1,9412	2,7869
								$\Sigma\chi^2$ Vertical	8,3286	8,3043	31,0712	47,7041

$$\chi^2 = \frac{(\text{f. obs} - \text{f. esp})^2}{\text{f. esp.}}$$

Êstes χ^2 estão agora contidos nas restantes colúnas do quadro I. Com excepção da espiga n.º 10-211-1937, cujos valores de χ^2 são muito elevados, nenhuma outra espiga apresentou um χ^2 significante, quer considerando cada classe individualmente, de cada espiga, quer considerando as três classes de cada espiga, em conjunto. O limite de 1% para cada classe é de 6,6 (1 gráu de liberdade) e para as 3 classes em conjunto 9,2 (2 gráus de liberdade). A espiga 10-211-1937 teve então uma distribuição muito anormal das duas classes crossover, com um χ^2 muito significante. Naturalmente alguma coisa de anormal aí aconteceu e esta espiga parece assim, á primeira vista, não fazer parte do lote presente; deveria porisso ser retirada para estudos em separado. Um tal acontecimento porém, num total de 17 espigas (aproximadamente 5%), póde ainda ter sido produzido pelo acaso e uma análise do total de espigas mostra muito bem que foi isto o que aconteceu. De fáto, a soma dos χ^2 de cada classe, para todas as espigas, inclusive a 10-211-1937, mostra que a significância desta espiga desaparece no total. O limite para cada classe, no total de 18 amostras, é 36,7 (18 gráus de liberdade) ; cada classe tem um χ^2 insignificante, memo com a espiga que, considerada individualmente tinha um χ^2 muito alto. Considerando agora as três classes em conjunto e o total de 18 espigas obtemos um $\chi^2 =$ 57,39. Êste valor, que corresponde a um gráu de liberdade igual a 36 (2 de cada espiga x 18 espigas) e a 54 χ^2 somados, é insignificante no limite de 1%, segundo o χ^2 calculado para quando o gráu de liberdade é maior do que 30, de acôrdo com

$$\delta = \sqrt{2\chi^2} - \sqrt{2 n_{f\chi^2}} \quad (*)$$

(*) *F. G. BRIEGER — Jornal de Agronomía, vol. 3 (em impressão).*

$$\delta = \sqrt{2 \times 57{,}39} - \sqrt{2 \times 36}$$

$$\delta = + 2{,}23$$

***

Uma vez calculados os valores de c e verificada a distribuição razoavel em cada classe, podemos agora procurar obter um valor que maisse aproxime do ideal. Recorramos para isso ao valor obtido do total de sementes.

O quadro I mostra, em baixo, o cálculo para todas as espigas consideradas como uma só amostra. Para este total de um valor que mais se aproxime do ideal. Recorramos para isso ceder assim á análise do $\varkappa^2$. Verificamos então, com estes dados, que c é igual a 4,77%, com $\varkappa^2$ para cada classe (gráu de liberdade 1) e para o conjunto das quatro classes (gráu de liberdade 3) insignificante. Fizemos tambem ainda o seguinte: eliminamos do total a espiga duvidosa 10-211-1937 e encontramos agora para c um valor igual a 4,56%; podemos assim observar que a retirada desta espiga em quasi nada alterou o resultado, pois a diferença entre os dois valôres é bastante insignificante:

$$\delta = \frac{\text{desvio}}{\sigma\,\text{dif.}} \quad (*)$$

$$\delta = \frac{4{,}77 - 4{,}56}{0{,}49} = + 0{,}43$$

Determinamos assim que o c médio é igual a 4,77% e para saber agora se os demais valores encontrados são diferentes dêle, basta efetuarmos um "δ -test", do menor e do maior valcr de c encontrados, respectivamente 2,23% e 6,63%; comparando-os com 4,77 que pode ser considerado como ideal,

(*) *O erro foi determinado com a ajuda da tábua 15 de Brieger.*

$$\delta = \frac{\text{desvio}}{\sigma}$$

$$\delta = \frac{2{,}23 - 4{,}77}{1{,}14} = -2{,}22$$

$$\delta = \frac{6{,}63 - 4{,}77}{1{,}56} = +1{,}19$$

vemos que os dois δ são insignificantes no limite 1% mostrando que êstes dois valores de *c*, embora bastante diferentes, são somente desvios do acaso do valor de 4,77%. Da mesma forma, todos os demais c terão desvios menores que os extremos e porisso insignificantes.

Resultado interessante tambem é o que está contido no quadro II. Trata-se das mesmas espigas e os dados estão distribuidos na mesma ordem que no quadro I. Somente os valores esperados é que foram calculados de acôrdo com c = 4,77%, ou seja, considerando este valor, tomado do total de sementes, como médio e porisso razoavelmente ideal. Desta forma verificamos que todos os χ^2 são insignificantes, mesmo os da espiga 10-211-1937. Os χ^2 de cada classe e de cada espiga são sempre menores que o limite de 6,6 (1% e gráu de liberdade 1). Os valores de χ^2 para as três classes de cada espiga são tambem menores que o limite de 9,2 (1% e gráu de liberdade 2). Somando-se os χ^2 de cada classe e de todas as espigas, temos valores menores que o limite de 36,7 (1% e gráu de liberdade 18). O χ^2 total, correspondente ás 3 classes e ás 18 espigas, tambem é insignificante, com o gráu de liberdade 36 (2 de cada espiga x 18 espigas) e 54 χ^2 somados:

$$\delta = \sqrt{2\,\chi^2} - \sqrt{2\,n_{f\chi^2}}$$

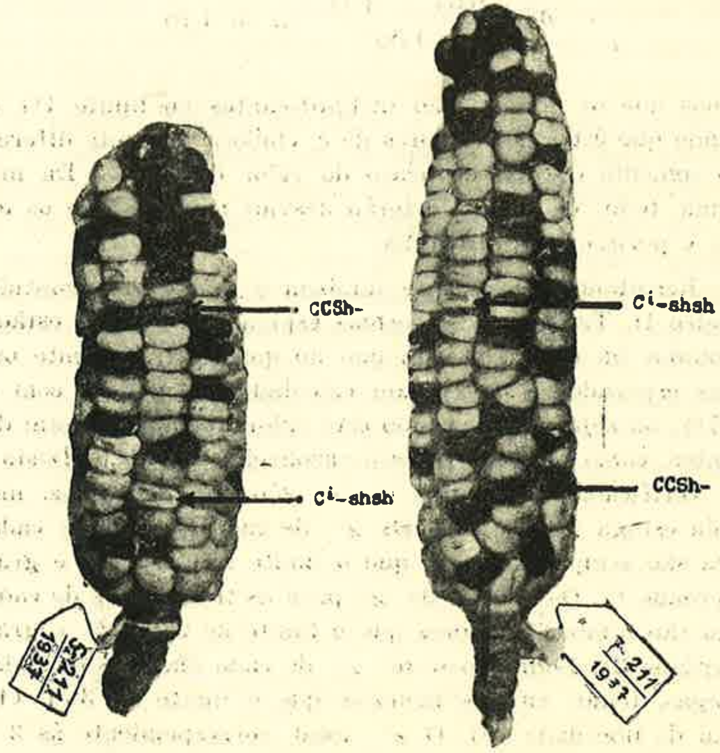
$$\delta = \sqrt{2 \times 47{,}70} - \sqrt{2 \times 36}$$

$$\delta = +1{,}29$$

A espiga 10-211-1937 pode assim, com bastante segurança ser considerada como fazendo parte do lote presente.

***

Consideremos agora c = 4,77% como o valor de "linkage" para os dois gens e vejamos se êle difere ou não do valor de c



encontrado por BRIEGER, na Inglaterra em 1938 e que foi 5,01%, num total de 16.279 sementes, tambem em F2. Com o seguinte " δ-test"

$$\delta = \frac{c_1\% - c_2\%}{\sigma \text{ dif.}}$$

$$\delta = \frac{4,77 - 5,01}{0,38} = - 0,63$$

podemos dizer que a diferença é insignificante, ou que os dois valores, 4,77% e 5,01%, são estatisticamente iguais.

Finalmente, podemos asseverar que o valor de "linkage" para os dois gens referidos não ficou alterado no novo meio. As classes para cada análise estavam bem distribuidas e pudemos, pelas análises realisadas, verificar que todos os c não são diferentes, as variações observadas tendo sido produzidas somente pelo acaso.

Trata-se então de um valor cuja determinação está sujeita ao jogo do acaso. Porisso embora os valores de *c* para os gens referidos e para cada caso tivessem sido outros, essas diferenças não podem ser consideradas como significantes; são valores que ocasionalmente podem ocorrer. Mais ainda, cada nova experiencia realisada, com métodos sempre cada vez mais aperfeiçoados, tende a melhor estabelecer o valor de *c* e assim os mapas genéticos deverão continuamente estar sujeitos a alterações, sem que com isso fiquem prejudicados.

ABSTRACT

The crossover value of the genes C*i*C and Sh sh in maize analised in F2 was found to be 5,01% (BRIEGER and others) in experiments realised in London. With the same strain another test was made in Piracicaba, S. Paulo, Brazil. The value of *c* as determined in F2 with coupling and in a total of 4217 grains was foud to be 4,77%. The value of the individual 18 ears varied around this mean and by means of a χ^2 test it was possible to show that the variation was at random. Furthermore the values 5,01% and 4,77% were foud to be statisticaly identical, thus showing that the change of conditions did not affect the frequency of crossing over.