

Estudos experimentais sôbre a origem do milho

F. G. Brieger

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

INDICE

| | | | |
|--|-----|---|-----|
| 1 — Introdução | 226 | C - A esterilidade dos homozigotos TuTu | 246 |
| A - As hipóteses antigas | 226 | D - A segunda fase da domesticação | 246 |
| B - A hipótese de Mangelsdorf and Reeves | 227 | | |
| C - Resumo | 232 | | |
| 2 — A reconstrução do milho selvagem | 233 | 4 — A distribuição geográfica | 249 |
| A - O problema | 233 | A - A distribuição do milho indígena | 249 |
| B - Os estudos genéticos | 233 | B - A distribuição dos gens | 251 |
| C - Explicação genética de reversão atavística | 239 | C - A distribuição de estruturas cromossômicas ("knobs") | 251 |
| 3 — Reconstrução da domesticação | 241 | 5 — Conclusões | 254 |
| A - O primeiro passo de domesticação | 241 | Abstract | 256 |
| B - A hipótese da hibridação e o "inbreeding" | 243 | Literatura | 261 |
| | | Explicação das figuras | 263 |

1 — INTRODUÇÃO

A) As hipóteses antigas

O milho ocupa ainda hoje entre as plantas cultivadas uma posição muito excepcional, pelo fato de que não se conhecem espécies selvagens que possam ser consideradas como os tipos ancestrais ou, no mínimo, como uma aproximação ao “milho selvagem”. Não houve uma evolução do milho nos últimos séculos que nos permitisse tirar conclusões sobre o que aconteceu no início da sua domesticação. As variedades que foram encontradas em cultivo por ocasião da descoberta das Américas foram em grande parte idênticas às variedades ainda hoje cultivadas, e não há restos “fósseis” propriamente ditos de milho, mas apenas espigas ou reproduções encontradas nos túmulos de tempos antes de Cristo, às quais correspondem exatamente as variedades que os índios ainda hoje cultivam, como demonstrado na fig. 1. (COLLINS 1923, ANDERSON AND BLANCHARD, 1942).

Assim somos forçados tentar solucionar o problema da origem do milho por processos indiretos, e também não devemos ficar admirados que uma questão tão interessante e que se refere a um cereal de tal valor mundial ainda não tenha encontrado uma solução satisfatória e final.

A maioria dos trabalhos que se ocupam com o problema é muito empírica, aproveitando-se de toda sorte de observações, mais ou menos acidentais. Também as duas hipóteses básicas não são produtos de experimentos dirigidos. Obtendo uma parte de uma espiga de milho *Tunicata* do Brasil, ST. HILAIRE (1829) formula a sua hipótese de que este tipo fosse a melhor aproximação até então conhecida ao tipo selvagem. De outro lado, ASCHERSON (1875), depois da descoberta da *Euchlaena mexicana*, concluiu que talvez esta espécie fosse o ancestral do milho ou no mínimo uma forma próxima a ele. Estudando o ótimo resumo da literatura sobre o assunto na publicação de MANGELSDORF e REEVES (1939), nota-se que os autores, posteriores aos dois citados, frequentemente propuseram novas hipóteses, sem explicar porque os conceitos anteriores tinham que ser modificados e porque as novas conclusões tinham mais probabilidade de serem certas. Ultimamente os estudos sobre o assunto tomaram novo impulso.

MANGELSDORF and REEVES (1939) compararam os descendentes do cruzamento entre variedades de *Zea Mays* e *Tripsacum dactyloides* de um lado, de *Zea* e *Euchlaena mexicana* de outro e tiraram as suas conclusões deste material.

As minhas experiências foram iniciadas em 1937, pouco depois da minha chegada ao Brasil, com o intuito de aproveitar o material sul-americano para, ou achar ainda formas remanescentes do tipo selvagem, ou recompô-las por cruzamentos. Um primeiro resumo dos resultados foi publicado em 1943. Os experimentos já estavam bem encaminhados quando MANGELSDORF e REEVES (1939) publicaram o seu trabalho detalhado. Apesar de várias divergências que existem entre as nossas opiniões, verifiquei que havia um paralelismo muito pronunciado com relação às outras conclusões e planos de trabalho em geral. Tendo assim perdido a prioridade da publicação em vários pontos, resolvi retardar a minha publicação detalhada e continuar os estudos experimentais.

MANGELSDORF e REEVES discutem apenas a possibilidade de se produzir um milho selvagem sintético ("Possibility of Producing a Syntetic "Wild Corn", pg. 241). A descrição de uma tal forma experimentalmente reconstruída é o principal objeto deste trabalho.

Os meus estudos se estenderam em várias direções. Nesta publicação, porém, trataremos somente dos resultados que são ligados diretamente com o problema da origem do milho. Detalhes experimentais serão relatados em três outras publicações, sobre a distribuição e análise genética do milho indígena do centro da América do Sul (BRIEGER e CUTLER) e sobre as relações deste milho com as formas de *Euchlaena mexicana* (BRIEGER e ADDISON) e finalmente sobre o estudo detalhado de milho *Tunicata Paulista* (BRIEGER). Para não sobrecarregar o manuscrito com discussões gerais, reuni numa publicação especial, considerações sobre o mecanismo da evolução (BRIEGER, 1945).

B) A hipótese de Mangelsdorf e Reeves

A hipótese de MANGELSDORF e REEVES pode ser dividida em duas partes: uma que se ocupa com as relações entre *Zea Mays* e *Euchlaena mexicana* e assim tenta regeitar a teoria de ASCHERSON, enquanto que a outra parte é dedicada à explicação da origem do milho, oferecendo uma forma modernizada da teoria de ST. HILAIRE.

Com referência ao primeiro ponto, os resultados dos seus estudos induziram os autores a inverter a relação, considerando não mais *Euchlaena* como forma ancestral, mas ao contrário, como descendente do milho, depois de um cruzamento com uma espécie de *Tripsacum*. Posteriormente eles frisaram a hi-

pótese mais decisivamente (REEVES and MANGELSDORF, 1942), incluindo agora teosinte no gênero *Zea* e considerando-o apenas como uma forma de milho, na qual algumas regiões de cromossômios foram substituídas por regiões correspondentes de alguma espécie de *Tripsacum*. As provas experimentais, porém, são todas indiretas, faltando a demonstração definitiva: a obtenção de uma forma semelhante a *Euchlaena* de um cruzamento *Zea* x *Tripsacum*. Em alguns pontos o julgamento dos autores me parece até por demais subjetivo.

Os resultados da análise genética do cruzamento *Zea* x *Euchlaena* não apoiam de modo claro a opinião de MANGELSDORF and REEVES. Os autores que analisaram a segregação dos híbridos *Zea* x *Euchlaena*, chegaram a opiniões bastante divergentes. COLLINS and KEMPTON (1918) chegaram à conclusão que a segregação em F₂ é bastante complicada, não podendo encontrar-se qualquer caso de uma segregação mendeliana definitivamente monofatorial. LANGHAM (1940), de outro lado, achou que se trata de poucas diferenças monofatoriais. MANGELSDORF and REEVES (1939), nas análises do "backcross" (*Zea* x *Euchlaena*) x *Zea*, concluíram que muitas das diferenças específicas podem ser atribuídas a poucas diferenças entre regiões cromosômicas, duas das quais localizadas no cromossômio IV, que contém também o fator tunicata. As nossas observações (BRIEGER e ADDISON), em F₂, F₃ e "backcrosses", estão de acordo com as conclusões de COLLINS and KEMPTON. As diferenças das duas espécies não dão segregações simples. Além disso, muitas combinações de gens não podem ser encontradas em consequência de uma eliminação forte, tanto gônica como zigótica, nos híbridos.

A situação é diferente se estudarmos o comportamento dos gens mutados ("mutant gens") de milho que desde há muito tempo são objeto de estudos genéticos. Estes dão uma segregação clara e bem analisada em cruzamentos entre linhagens de milho, e o mesmo foi constatado nos cruzamentos com *Euchlaena* (EMERSON 19), (BEADLE and EMERSON, 1932, EMERSON and BEADLE, 1932, BEADLE, 1932a, AMASSON 1936, MANGELSDORF and REEVES, 1939). Daí pode-se concluir que os cromossômios destas duas espécies são em grande parte homólogos, contendo apenas aleles diferentes.

A citologia comparativa de milho e teosinte foi estudada por vários autores. De acordo com KEMPTON and POPENOE (1937) e LONGLEY (1937) existem três tipos de *Euchlaena*: Teosinte do Sul de Guatemala, do Norte do mesmo país e do México. Nos híbridos com milho LONGLEY (1942), BEADLE

(1932b) e O. MARA (1942) acharam pareamento normal quando foram usadas as formas de *Euchlaena* do Norte de Guatemala e do México, mas nos híbridos com *Euchlaena* do Sul de Guatemala (inclusive o chamado Teosinte da Flórida) univalentes foram encontrados com bastante frequência. É interessante notar que estas mesmas irregularidades foram observadas no cruzamento entre *Euchlaena* do Norte e do Sul de Guatemala. LONGLEY (1937a) dá uma descrição detalhada da estrutura dos cromossômios de milho e das diferentes linhagens de *Euchlaena*.

A hipótese da origem híbrida de teosinte encontra mais uma dificuldade de natureza citológica. Todas as espécies de *Tripsacum*, que hoje são encontradas na América Central, são auto-tetraplóides com $2n = 4 \times 18 = 72$ cromossômios (MANGELSDORF and REEVES, 1939). Os híbridos destes auto-tetraplóides com *Zea* dão, de acôrdo com os mesmos autores, 18 bivalentes, formados pelos cromossômios de *Tripsacum*, ficando os dez cromossômios de milho univalentes. Estes híbridos foram estéreis nos estudos mencionados, mas se houvesse tido, em alguma época, híbridos um pouco férteis, eles dariam descendentes, ou por auto-fecundação ou por "backcrosses" para *Tripsacum*, que seriam indivíduos diplóides com alguns cromossômios de milho. Na medida da eliminação dos univalentes de milho, aumentaria a fertilidade. "Backcrosses" para milho deveriam ao contrário, ser mais estéreis, pois agora, além de numerosos cromossômios do milho, todos os 18 cromossômios de *Tripsacum* se tornariam univalentes. Assim, deve-se esperar uma maior frequência de formas de *Tripsacum* com alguns caracteres de milho, do que de formas de milho com alguns caracteres de *Tripsacum*. Porém os autores não fazem referência alguma aos primeiros.

A situação teria sido diferente se formas diplóides de *Tripsacum* entrassem no cruzamento. Porém, até hoje tais formas são desconhecidas na América Central, e não se sabe nada ainda sôbre a filogenia das espécies deste gênero. Por enquanto se conhecem formas diplóides de *T. dactyloides* da América do Norte (LONGLEY 1937, MANGELSDORF and REEVES 1939) e de *T. australe* da América do Sul (GRANER e ADDISON 1945).

Reunindo tôdas as observações até hoje feitas pelos vários autores, não pode haver dúvida alguma de que a homologia cito-genética entre milho e teosinte é extremamente grande, sem que possamos concluir que uma espécie seja descendente da outra, ou se ambas as espécies são simplesmente des-

cedentes de uma só espécie bastante remota, e que hoje não mais existe, tendo-se evoluídas depois separadamente uma da outra. A análise genética não oferece uma base segura, não somente da nova hipótese de MANGELSDORF and REEVES, como também da antiga hipótese de ASCHERSON.

A segunda parte da hipótese de MANGELSDORF and REEVES se refere à origem do milho sem a interferência de *Euchlaena*. Os autores juntam vários argumentos que apontam na direção da antiga hipótese de ST. HILAIRE, todos de natureza indireta, mas que em conjunto ficam convincentes.

As várias objeções levantadas, especialmente na época pré-mendeliana, contra a hipótese original de ST. HILAIRE, têm hoje pouco interesse, como a aparente inconstância do milho *tunicata*. De fato, até hoje ninguém foi capaz de estabelecer uma linha pura de *tunicata*, apesar de que os números na segregação das plantas Tutu quando auto-fecundadas demonstram claramente que as plantas homozigotas TuTu são viáveis e dão plantas fortes, que não se distinguem claramente das heterozigotas. A maioria das heterozigotas são férteis, porém até agora as homozigotas sempre foram estéreis. A inconstância das plantas *tunicata* assim é perfeitamente explicada; mas o outro lado do problema me parece muito mais importante: a esterilidade das formas homozigotas. Deve-se estranhar que a suposta forma "selvagem" fôsse absolutamente estéril. Os dados até hoje obtidos não permitem decidir se esta esterilidade é devida à ação unicamente do gen Tu, ou se a forma homozigota TuTu contém outros gens da natureza de modificadores que provocam a falta de fertilidade. Iniciei experimentos para esclarecer definitivamente este ponto e para estudar a base histológica da esterilidade.

Um outro ponto escapou até hoje à atenção de todos os autores, apesar de sua importância do ponto de vista da teoria moderna de evolução. É necessário explicar como um gen, especialmente um gen com efeito tão pronunciadamente dominante, podia ter sido conservado, provavelmente durante milhares de anos, quando ele não tem nenhuma utilidade que pudesse explicar uma seleção pelos índios a seu favor e quando a forma homozigota era estéril. A explicação foi recentemente encontrada por CUTLER (ainda não publicado), que observou que os índios da Bolívia acharam uma utilidade do milho *Tunicata* para fins da medicina mística. Os grãos cobertos de glumas estão sendo ainda hoje usados contra os maus espíritos, evidentemente desde tempos prehistóricos. A descoberta de CUTLER explica perfeitamente a conservação do gen Tu desde longo tempo.

A hipótese antiga de ST. HILAIRE reapareceu numa forma modificada, de acordo com os novos conhecimentos genéticos, e MANGELSDORF and REEVES opinam que o gen *Tu*, na forma homozigota e nas plantas antigas e selvagens causa, em combinação com gens modificadores, o aparecimento na flecha de flores hermafroditas ou fêmeas.

Como já relatado em outro trabalho (BRIEGER 1943, 1945), consegui obter por seleção em milho *tunicata paulista* formas muito mais extremas do que aquelas obtidas pelos dois autores citados. Mas todas elas não satisfaziam a nossa esperança e não podiam ser consideradas como uma reconstrução da forma selvagem e primitiva do milho, pois não resolvem o problema fundamental da origem da espiga. A hipótese de MANGELSDORF and REEVES não explica a origem da espiga do milho, pois todas as plantas de milho *Tunicata* até hoje investigadas, como também todas as plantas de milho da constituição *tutu*, têm uma espiga que é a resultante do processo de seleção e domesticação.

Nas figs.2 e 3 reproduzimos fotografias de plantas inteiras e flechas com um número muito elevado de flores fêmeas, obtidas em nossos experimentos de seleção com heterozigotos *Tutu*. Em primeiro lugar é evidente que a transformação muito extrema não depende da homozigotia do gen *Tu*. Em segundo lugar não podemos considerar a transformação das flechas em inflorescências hermafroditas como uma completa reversão para a forma selvagem.

As fotografias das flechas transformadas (Figs. 3, B e C) demonstram que elas mantêm a ramificação típica da flecha; temos, acima da última folha, uma inflorescência ramificada com um eixo central ("central spike") que é transformado em uma espiga com ráquis muito flexível (Fig. 3, seta 2 e 3) e na qual encontramos na base muitos galhos laterais com 4 fileiras de espiguetas apenas. Esta estrutura de ramificação é exatamente a mesma que nós encontramos em duas linhagens de milho sul-americano, isto é, um tipo boliviano, recebido do Dr. Cardenas (Fig. 11, A e B) e outro uma forma do milho Cateto, e encontrado na Fazenda Sta. Izabel, perto de Piracicaba (Fig. 11, C) e cedida a nós pelo Sr. Lino Morganti. Aqui também temos a espiga central com muitas fileiras e as ramificações na base com menos, geralmente quatro fileiras, todas elas incluídas no mesmo envólucro de palhas.

Assim, como já explicado anteriormente (BRIEGER, 1943) as plantas *Tu* com as flechas transformadas não nos dão uma explicação da origem do órgão principal do milho, a espiga,

pois elas têm simplesmente duas espigas, uma na posição normal lateral (seta 1 na Fig. 3) e outra terminal (setas 2 e 3 na Fig. 3).

Recentemente MANGELSDORF and CAMERON (1942) e REEVES (1944, pg. 141) apresentam as suas conclusões numa forma mais geral e que pouco difere da antiga hipótese de ST. HILAIRE: "that cultivated maize originated from a wild form of pod corn which has once, and perhaps still is, indigenous to the lowlands of South-America". (MANGELSDORF and CAMERON, pg. 217).

C — Resumo

Podemos formular a situação como ela se apresenta depois do estudo da literatura sobre a origem do milho. Há argumentos fortes em favor da hipótese de ST. HILAIRE de que o milho tunicata é a forma mais próxima ao milho selvagem que hoje ainda existe. Mas esta hipótese tem que ser posta mais de acordo com os conceitos modernos da genética e da botânica; e somente depois disso será possível decidir se podemos ou não aceitá-la.

Chegamos à conclusão que os fatos genéticos e citológicos não provam de modo convincente nem a teoria de ASCHERSON que milho é um descendente de *Euchlaena*, nem a hipótese de MANGELSDORF e REEVES, que *Euchlaena* é um derivado de milho, com apenas alguns segmentos dos cromossomos substituídos por regiões correspondentes de *Tripsacum*. Como já demonstrei (1943), os caraterísticos de *Euchlaena* indicam uma origem independente de ambas as espécies.

Como hipótese provisória ("working hypothesis") sobre a origem do milho podemos aceitar que o gen *Tu* é um gen remanescente selvagem ("wild relic gen"). Mas não podemos esperar que a ação fenotípica do gen *Tu* no milho selvagem tivesse sido a mesma que aquela encontrada hoje no milho cultivado. Sabemos (BRIEGER 1945) que as mudanças do conjunto de modificadores (modifier shift) podem alterar profundamente a ação de gens principais ou determinadores, e não pode haver dúvida de que na passagem do tipo selvagem para a forma doméstica houvesse profundas alterações em muitos gens.

Também seria necessário decidir se todas estas alterações dependiam apenas da ocorrência de mutações e sua seleção, ou se durante o processo da domesticação cruzamentos também foram empregados.

O caminho experimental que deve ser seguido hoje consiste numa tentativa de reconstruir, por métodos genéticos, tanto quanto possível, a forma primitiva e selvagem.

2) A RECONSTRUÇÃO DO MILHO SELVAGEM

A — O problema

Antes de tentar a reconstrução, por métodos genéticos, da forma selvagem e primitiva, parece indicado explicar em primeiro lugar o que nós consideramos para o milho como um conjunto de caracteres primitivos. Todos os característicos, deixando naturalmente de lado anormalidades do milho comum, são encontrados nas outras gramíneas, exceto apenas a espiga. Será então necessário em primeiro lugar alterar a forma da espiga e reduzi-la a uma forma mais primitiva, que deve ter no mínimo os seguintes característicos essenciais: número de fileiras reduzido a duas ou quatro no máximo, grãos individualmente protegidos e presença de um mecanismo para a separação dos grãos quando maduros.

Deixamos por enquanto de lado outros característicos botânicos que me parecem relativamente menos importantes, como a esterilidade de uma flor em cada espigueta fêmea, a grossura e rigidez da ráchis, a diferença entre inflorescências laterais e terminais.

Por razões botânicas temos que admitir no mínimo duas possibilidades de satisfazer cada uma das exigências mínimas:

| | | |
|-----------------------|-------------------|------------------------------|
| número de fileiras: | $2 \times 1 = 2$ | $2 \times 2 = 4$ |
| proteção de sementes: | pela ráchis | pelas glumas |
| separação dos grãos: | ráchis quebradiça | grãos separando-se da ráchis |

É interessante notar que a situação mencionada em primeiro lugar e em relação a todos os característicos é encontrada em *Tripsacum* e seu parente *Euchlaena*. Aqui os grãos são arranjados em apenas duas fileiras opostas, apesar de que cada fileira é de fato ainda dupla, contendo sempre uma espigueta fértil e uma reduzida e estéril, a qual raramente se desenvolve. Os grãos são essencialmente protegidos por crescimentos laterais e bractóides da ráchis e que chamamos de "tapas". (Fig. 4, A e B, e Fig. 13). Uma exceção encontramos às vezes em uma forma de *Tripsacum australe* (Fig. 13, B e D),

onde as tapas são relativamente pequenas e as glumas muito compridas. Finalmente, quando maduras, as espigas se desarticulam por completo, ficando cada internódio da ráchis com um grão separado dos demais.

Não pode haver dúvida de que as formas mais primitivas de *Maydeae* deviam ter tido duas fileiras duplas, representando *Tripsacum* e *Euchlaena* uma redução filogenética neste sentido. É também bem possível, a julgar pelas anormalidades que às vezes são encontradas em milho e *Tripsacum* que originalmente as fileiras de cada lado da espiga eram diferenciadas, com uma fila de espiguetas sésseis e fêmeas ou hermafroditas e outra com espiguetas pedunculadas e machos ou também hermafroditas. Uma tal situação é o normal nos gêneros de *Manisurus* e *Rotboelia*.

Com referência à segunda série de caracteres, encontramos certos indícios entre as formas de milho.

LANGHAM (1940) relatou um caso de espigas com $2 \times 2 = 4$ fileiras. Em meu material de milho precoce e doce apareceram dois tipos: um com espigas que tinham fileiras numerosas na base, e apenas quatro fileiras na ponta, e um outro tipo com espigas que eram completamente formadas por quatro fileiras. A genética e a origem como mutação ou recombinação deste caráter não é ainda bastante clara em ambos os casos. Mas a morfologia das espigas com 4 fileiras é bastante interessante, pois aparece uma assimetria entre a face ventral e dorsal.

A proteção dos grãos pelas glumas é o principal característico do milho *Tunicata*. Além disso encontramos não raramente em milho indígena do Centro da América do Sul, grãos meio cobertos, especialmente em "Pipoca Pontuda Paulista".

Quanto à quebradice, notamos muitas vezes, debulhando milho brasileiro, que ele tem um tecido preto na região onde os grãos eram fixados à ráchis. Este tecido talvez represente um resíduo de uma antiga camada de separação. Porém, nunca achamos um milho "quebradiço". Contrário à opinião de MANGELSDORF and REEVES (1939) verificamos que o sabugo de milho *tunicata* é extremamente duro e os grãos em geral difíceis de debulhar. Também nas formas deste milho com numerosos grãos na flecha, não podemos considerar a ráchis ou as ramificações da mesma como realmente quebradiças, pois elas quebram em qualquer lugar e apenas quando bastante secas.

Assim, era evidente, quando iniciei os trabalhos experimentais, que não existia ainda uma forma de milho que satis-

fizesse tôdas as nossas exigências com respeito aos caracteres principais do milho selvagem, mas que isoladamente em diferentes linhagens encontramos elementos estruturais que podiam ser considerados como remanescentes do tipo selvagem.

B — Os estudos genéticos

Em primeiro lugar tentei solucionar o problema pelo estudo do milho indigena do Brasil. As análises genéticas de milho cultivado pelos índios demonstraram que neles se encontram tipos com alguns carateristicos primitivos, porém nenhuma linhagem tem um conjunto completo de caracteres primitivos (BRIEGER, 1943, BRIEGER e CUTLER, 1945). Voltaremos mais tarde a esta questão dos milhos indígenas brasileiros.

Mencionamos na introdução que parece bem provável que o gen **Tu** fôsse um gen remanescente, com a restrição que a sua ação fenotípica atual deve ser diferente, em várias direções, da ação original. Era então necessário estudar experimentalmente até que ponto uma alteração do fenótipo podia ser obtida pela seleção dos modificadores. O resultado dos meus estudos foi bastante surpreendente (BRIEGER, 1943, 1945).

Demonstrei que a ação do gen **Tu** é bastante diferente em plantas de milho e nos híbridos da primeira geração entre milho e teosinte. Sem entrar em detalhes, basta comparar as fotografias das espigas de híbridos **Tutu** (Figs. 7 e 8) e **tutu** (Figs. 5 e 6), e lembrar que nas primeiras a ráchis é muito quebradiça e nos outros extremamente rígida, e que os híbridos **Tutu** têm em geral mais fileiras duplas, muitas vezes compostas de espiguetas fêmeas e machos, do que os híbridos interespecíficos, porém homozigotos para o gen **tu**.

Mas, se os híbridos da primeira geração, apenas heterozigotos para os modificadores de **Euchlaena** e **Zea**, já mostraram efeitos novos do gen **Tunicata**, maior diversidade poderá ser esperada quando nós conseguirmos selecionar combinações homozigotas de modificadores. Por isso continuei a seleção, tanto em **F2** como em **F3** do cruzamento, como em repetidos "backcrosses para **Euchlaena**, sendo êstes últimos provavelmente mais importantes para a obtenção mais rápida de uma homozigotia dos modificadores.

Vamos dar agora a descrição de três tipos, sucessivamente obtidos em nossas experiências de seleção.

1.º) As espigas das plantas **F1** (Milho **Tu** x **Euchlaena tu**) já descritas anteriormente (1943) são um pouco variáveis em

detalhes. Muito comum é o tipo ilustrado na Fig. 7, A, com 2 x 2 fileiras, sendo em cada lado uma fileira com espiguetas sésseis e fêmeas e outra com espiguetas pecioladas e machos. Na face dorsal não há sinal de "tapas", que são desenvolvidas francamente na forma de pequenas brácteas na face ventral. As bases de espiguetas no lado oposto da ráchis são colocadas geralmente em alturas diferentes. Estes dois pontos e outros detalhes são bem visíveis na Fig. 7. Como já foi explicado, isto é somente um dos fenótipos encontrados em F1, além de outros com 2 x 2 = 4 fileiras com espiguetas fêmeas ou com 2 x 3 = 6 fileiras e raramente 2 x 4 = 8 fileiras (Figs. 7 e 8).

A estrutura das espigas maduras é complicada pela alta frequência de grãos estéreis e mal desenvolvidos, sendo o desenvolvimento forte das glumas sempre evidente. As tapas, ainda visíveis na face ventral durante o florescimento, não crescem mais e praticamente estão ausentes em espigas maduras. O principal característico é a quebradicidade da ráchis em todos nós, nos quais se encontravam uma ou mais espiguetas com grãos bem desenvolvidos.

2.º) O segundo tipo foi encontrado em vários indivíduos do primeiro "backcross" para *Euchlaena* e diferiu da forma 1 acima descrita em detalhes, sem conter alguma coisa realmente divergente e nova. A variação fenotípica era bem mais reduzida. A presença de apenas duas fileiras em cada lado da ráchis era generalizada, a quebradicidade da ráchis bem acentuada, combinada com um comprimento considerável dos internódios. Isto em conjunto deu um aspecto bem característico (Fig. 9).

O mesmo tipo também foi encontrado, porém raramente, nas famílias de F2. Evidentemente trata-se de um genótipo que contém menos fatores de milho do que de *Euchlaena*, estes últimos ainda em parte na forma homozigota.

3.º) No segundo backcross para *Euchlaena*, apareceram novos tipos que iam além de tudo até hoje conhecido (Fig. 10). Trata-se de plantas *Tutu* com duas séries de fileiras duplas. Em cada série temos uma espiguetas fêmea sésseis e outra pedunculada. A diferença essencial encontramos na forma da ráchis, que é mais fina, achatada e ligeiramente "zig-zag", porém relativamente firme com camadas de separação na base do pedúnculo de cada espiguetas.

Deste modo temos agora obtido um tipo de espiga muito comum nas Gramíneas selvagens.

O tipo 1 e 2 podem ainda ser considerados como uma combinação dos característicos de *Euchlaena* e do milho cultivado,

porém no tipo 3 temos no mínimo uma importante inovação: a flexibilidade da ráchis com as camadas de separação na base dos grãos. Este novo tipo preenche todos os requisitos que nós formulamos com respeito à espiga do milho ancestral e de forma toda especial.

Agora restam apenas três outros caraterísticos do milho cultivado, a transformação dos quais também talvez seria necessária para terminar a reversão ao tipo selvagem.

a) Mencionaremos em primeiro lugar o desenvolvimento de palhas, isto é, de uma série de folhas, muito juntas e que são reduzidas na sua base, a bainha. Tanto a forma 3 como *Euchlaena* têm estas folhas. Porém, estes órgãos protetores não são muito fechados, de modo que os grãos maduros caem facilmente. Elas são muito necessárias como órgãos protetores para as espigas na época do florescimento, até o chamado estado leitoso, pois somente depois deste as glumas e outros órgãos protetores tornam-se duros.

b) Entre as caraterísticas comuns para teosinte e milho, devemos mencionar a diferença entre as inflorescências laterais, que são total ou parcialmente fêmeas, e as inflorescências terminais, que são exclusivamente machos. É difícil decidir se esta separação dos sexos já era um caraterístico do milho selvagem.

Podemos registrar que o gen *Tu* tem um efeito forte na direção de aproximar a estrutura da espiga e da flecha.

Nas ramificações da flecha se encontram 4 fileiras de espiguetas, duas sésseis e duas pedunculadas, arrançadas em forma assimétrica, de modo que visto de cima (face ventral), as duas fileiras sésseis ficam no centro, escondendo a ráchis e as pedunculadas no lado. Tanto nas plantas da F1 (Tunicata milho x teosinte) como nas F2 e F3 aparecem com frequência espigas com 4 fileiras e o mesmo tipo de arrançamento.

O mesmo gen *Tu*, combinado com modificadores de milho apenas, pode causar uma outra aproximação. Já mencionamos acima que obtive por seleção flechas com muitas barbas. Nestas é muito comum achar-se um arrançamento nas ramificações, idêntico ao descrito acima: quatro fileiras, das quais as duas centrais são sésseis e fêmeas e as duas externas machos e pedunculadas. De outro lado, a parte central da flecha ("central spike") se aproxima muito a uma espiga normal com ráchis flexível.

As folhas imediatamente abaixo da flecha mostram sinais claros de uma transformação em palhas.

Este efeito do gen *Tu* sobre a flecha, observado em milho

puro, é completamente recessivo hipostático nos cruzamentos com *Euchlaena* de Guatemala e quase recessivo quando usam os Chalco-teosinte do México, de modo que não poderemos esperar o seu reaparecimento nos backcrosses para esta espécie. Nas gerações F2 ele já reapareceu, em combinação com alguns caraterísticos de *Euchlaena*.

Os efeitos do gen **Tu** sobre a espiga observada nos híbridos e backcrosses para *Euchlaena* são por sua vez recessivo-hipostáticos aos gens de milho como se pode deduzir dos backcrosses para milho, nos quais eles não aparecem.

Tentaremos no futuro, seja simplesmente por autofecundação ou por cruzamentos entre o tipo 3 acima descrito e o milho *Tunicata*, obter um tal reagrupamento dos modificadores de Teosinte e de milho, que além de manutenção dos principais caraterísticos do tipo 3, reintroduzimos uma aproximação na estrutura das inflorescências em hastes e galhos laterais.

Usaremos neste trabalho várias formas encontradas em milho indígena do triângulo central da América do Sul, isto é, na região aproximadamente entre os Andes, a Bacia do Amazonas e a linha dos rios: Rio S. Francisco — Rio Grande — Rio Paraná — Rio Pilcomaya, para introduzir mais alguns caraterísticos, possivelmente primitivos: espiguetas multiflorais, espigas laterais ramificadas e ráchis flexível.

Foram observados três casos de tendência do funcionamento da flor estéril das espiguetas em espigas: no *Tunicata Paulista* e no *Pipoca Paulista* (BRIEGER), e em *Cateto* (DRUMOND, em Minas Gerais) além de uma variedade boliviana (CUTLER). A situação parece fisiologicamente pouco balanceada, pois encontramos às vezes a flor superior, às vezes a flor inferior da espiguetas e às vezes ambas desenvolvidas.

Como já mencionado, encontramos dois casos de espigas ramificadas, um em milho *Cateto* de S. Paulo e outro em milho Boliviano (Fig. 11). O tipo de ramificação no tipo ramoso da coleção genética originária dos EE. UU. (EMERSON, etc., 1935) também às vezes é o mesmo, sem que se possa dizer que este mesmo gen do cromossômio 7 fôsse presente no citado milho indígena. Em todo caso, todos estes tipos têm na espiga a mesma modalidade da ramificação como na flecha: uma haste central ("central spike") e ramos laterais, todos muito juntos e separados das primeiras folhas ou palhas com gemas axilares por algumas folhas, sem galhos laterais.

A introdução de uma ráchis flexível do milho indígena do triângulo central da América do Sul será provavelmente bas-

tante difícil, pois até hoje encontramos este característico somente esporadicamente e sem poder fixá-lo geneticamente.

c) Finalmente, devemos mencionar um característico de milho: a extrema incapacidade do milho de regenerar galhos que tornam a planta completamente estéril quando as espigas, preformadas muito cedo, foram destruídas por qualquer causa, como por exemplo um ataque de insetos. A diferença entre milho e teosinte neste sentido pode ser facilmente explicada pelo seguinte experimento. Plantas de milho pipoca com alguma perfiliação e de *Euchlaena*, foram arrancadas quando tinham atingido cerca de um terço de seu tamanho, divididas e as partes plantadas de novo. Tanto a haste principal como as perfiliações tinham neste momento já o seu sistema radicular bem desenvolvido de modo que elas pegaram facilmente. As partes de *Euchlaena* produziram novas perfiliações com facilidade e cada uma formou uma nova touceira. No milho, porém, tanto a haste principal como as perfiliações desenvolveram-se inalteradamente como se elas tivessem ficado em conjunto. As flechas das perfiliações eram parcialmente fêmeas e as espigas pequenas. Nenhuma nova perfiliação foi formada.

Esta falta de qualquer regeneração, combinada com a preformação das espigas, não é nada vantajosa numa planta cultivada, e assim não parece provável que este caráter tivesse sido escolhido e selecionado pelos índios durante a domesticação.

Usando a imaginação, podemos formular a hipótese que o milho selvagem era uma planta bianual, que numa primeira fase de crescimento formou, além do seu sistema radicular primário e secundário também os primórdios das suas inflorescências, passando depois por um período de repouso que podia ter correspondido a uma época de frio ou seca. Assim, pode-se explicar a preformação das espigas. Na segunda época favorável, apenas um crescimento rápido sem novas diferenciações permitiu imediatamente o florescimento das plantas.

C) Explicação genética da reversão atavística

O tipo 3, descrito acima, encontrado em alguns indivíduos, difere tanto de *Zea Mays* como de *Euchlaena Mexicana*, e é ao mesmo tempo bem balanceado, tendo uma organização que permitiria a sua sobrevivência e propagação na natureza. As sementes, protegidas pelas glumas córneas, caem com facilidade e são bastantes leves para serem disseminadas.

Nós podemos interpretá-las como uma forma nova, ou como uma reversão para um tipo selvagem e ancestral.

A primeira interpretação seria a mesma que H. NILSON deu à origem de *Salix Laurina*, uma nova espécie de acôrdo com os sistemáticos especializados, que era conhecida dentro das coleções cultivadas e encontrada em alguns poucos lugares da natureza. Em experimentos, H. NILSON obteve formas idênticas como recombinação na segunda geração do cruzamento de *Salix viminalis* e *S. caprea*. Em ambos os casos, *Salix* e *Zea x Euchlaena*, falta ainda a prova que as recombinações "extravagantes" já estão constantes. *Salix Laurina* é apenas conhecida como planta fêmea, não se conhecendo ainda a forma macho desta espécie; dióica como outras espécies do gênero *Salix*. Até hoje ela foi propagada apenas por estaquia. O nosso tipo 3 foi obtido pela primeira vez no verão 1943-44 e as suas progênies obtidas por autofecundação serão estudadas este ano 1944-45.

Os carateristicos da *Salix Laurina* são diferentes daqueles de outras espécies do gênero, mas as diferenças não são muito profundas.

O nosso tipo 3, porém, difere tanto das espécies originais que os sistemáticos provavelmente hesitariam de incluí-lo no gênero *Zea* ou *Euchlaena* se as plantas tivessem sido encontradas na natureza e não obtidas em experiências genéticas. Mas o fato que mais me impressionou foi que este tipo corresponde de modo inesperado às exigências formuladas no início dos meus estudos com respeito às espigas do milho selvagem. É difícil imaginar que uma combinação de acaso de gens de duas espécies desse acidentalmente um fenótipo que se distingue muito dos pais e corresponde às exigências anteriormente formuladas para o ancestral do milho.

Mas antes de poder aceitar a interpretação do tipo 3 como uma reversão, devemos ainda fazer algumas considerações.

Como explicar geneticamente o reaparecimento do milho selvagem neste cruzamento e apenas depois de "backcrosses" para *Euchlaena*? Estes "backcrosses" evidentemente tendem a aumentar os gens modificadores de *Euchlaena*, tanto em número como em homozigotia, eliminando ao mesmo tempo em escala crescente os gens do milho domesticado. Não importa se nós considerarmos *Euchlaena* como uma espécie parente ou descendente de *Zea Mays*; ela deve ser portadora de um número grande de gens "selvagens"; ou homólogos ou até idênticos àqueles do milho selvagem. A nossa seleção era destinada a manter certos gens do milho, especialmente o gen *Tu*,

considerado um gen remanescente, além da substituição dos gens modificadores acumulados durante a domesticação.

Temos dois argumentos em favor da consideração do tipo 3 como uma reversão e a melhor aproximação ao milho selvagem:

1) Ele satisfaz na sua estrutura de espigas as exigências por nós anteriormente formuladas, sem repetir apenas as características do milho ou de *Euchlaena*. 2) A reconstrução do milho selvagem nos "backcrosses" é geneticamente explicada de modo satisfatório, pela homologia comprovada de muitos gens das duas espécies, uma das quais, *Euchlaena*, é uma planta selvagem.

3 — A RECONSTRUÇÃO DA DOMESTICAÇÃO

A) O primeiro passo na domesticação

Agora vamos inverter a nossa pergunta: se o tipo 3 é uma aproximação ou reconstrução do milho selvagem, como pode ter sido derivado dele durante o longo processo de domesticação o milho cultivado? Evidentemente é necessário uma substituição de numerosos gens que podem ser obtidos por mutação ou por hibridação. Assim, o gen *tu* do milho comum pode ser uma nova mutação do gen *Tu* do milho selvagem ou pode ser introduzido por um cruzamento com *Euchlaena* ou *Tripsacum*. A primeira espécie contém com certeza um alele *tu* idêntico em todos os aspectos ao alele do milho comum, e as espécies do outro gênero contém provavelmente o mesmo alele ou um alele correspondente.

Formulamos assim a hipótese que o primeiro passo na obtenção do milho cultivado do milho selvagem era um cruzamento com uma espécie de *Tripsacum* ou de um gênero parente. e inspecionamos os fatos para ver se podemos encontrar em milho característicos que não têm mais nenhum valor, mas que podem ser considerados como característicos introduzidos de *Tripsacum*.

Em *Tripsacum* os grãos são em geral protegidos pelas tapas e a ráchis em três lados, quando no lado dorsal a proteção é efetuada pela gluma externa que nesta região é muito dura e curva, como é melhor explicada pela fig. 14, A-C. As sementes são arredondadas, e ponteagudas onde era a base da barba. As inflorescências de *Tripsacum* (Fig. 15), são sempre fêmeas na base e machos na ponta, sendo a ráchis da primeira

região rígida e, quando madura, quebradiça e flexível na parte macho.

Em milho do triângulo central da América do Sul encontramos frequentemente característicos que podemos chamar "tripsacóides". Entre as diferentes linhagens indígenas o "Pipoca Pontudo Paulista" é o mais extremo neste sentido. Na base das espiguetas, no seu pedúnculo ou mesmo no sabugo existe uma elevação em forma de meia lua, às vezes muito pronunciada em cortes. Este elemento estrutural está na mesma posição do que as "tapas" de *Tripsacum* e *Euchlaena* e encontraria uma explicação se considerado como tapa de tamanho reduzido.

As glumas do milho são em geral reduzidas a membranas finas. Mas não raramente encontramos no "Pipoca Pontudo Paulista" na gluma externa uma zona córnea na mesma região que protege os grãos de *Tripsacum*.

A forma das sementes neste milho não é muito diferente daquela do *Tripsacum australe*, exceto que frequentemente a base da barba é transformada num bico muito longo.

Frequentemente o último terço das espigas é diferente dos primeiros terços, sendo mais fino, flexível, contendo ou flores machos isoladamente ou com tôdas as espiguetas machos.

A côr das sementes de *Tripsacum australe* é marron ou côr de terra. A mesma coloração é muito comum no milho indígena do Centro e Oeste do Brasil.

De outro lado, notamos em *Tripsacum australe* certas variações que talvez possam ser atribuídas, por sua vez, a uma transferência de poucos gens do milho. Entre os indivíduos que o Dr. CUTLER encontrou em Mato Grosso e que agora estão sendo estudados em Piracicaba, existe um indivíduo (Fig. 13 B e D, Fig. 14, D até E), que difere nos seguintes caraterísticos: um aumento de ramificação das inflorescências, grãos quase exclusivamente protegidos pelas glumas como em milho tunicata, sendo as tapas quase inexistentes, os estigmas brancos.

Também podemos explicar porque um híbrido entre um milho selvagem mais ou menos correspondendo ao nosso tipo 3 e *Tripsacum* oferece vantagens que induziram os índios a começar o seu cultivo e melhoramento.

Nós sabemos dos cruzamentos de milho (*tutu*) x *Euchlaena* e x *Tripsacum* que a fragilidade da ráquis é recessiva, sendo a espiga extremamente firme e rígida. De outro lado o conjunto desses gens de *Euchlaena*, no mínimo, suprime a camada de separação na base dos grãos. Assim podemos supor que nos híbridos originais das duas espécies, milho selvagem e

Tripsacum, ambos com espigas quebradiças de maneira diferente, aparece uma espiga rígida e não quebradiça, uma combinação extremamente vantajosa para a colheita de uma planta cultivada, exigindo menos trabalho, dispensando o uso de cestas ou sacos bem fechados e causando menores perdas do que a colheita de grãos pequenos e soltos.

Usando gerações posteriores pôde-se combinar o gen *tú* de **Tripsacum**, reduzindo assim o tamanho das glumas, e muitos gens modificadores do milho selvagem para a redução das "tapas", resultando grãos descobertos e sem ambos os elementos protetores. A grande vantagem destas alterações é evidente para todos que tentaram limpar os grãos tanto do milho *tunicata* como de **Tripsacum**.

Voltando agora mais uma vez à nossa pergunta como se deu a transformação do milho selvagem, semelhante ao nosso tipo 3, para o milho cultivado, podemos agora dizer que o cruzamento com **Tripsacum** oferecia aos índios um material muito favorável para a seleção, sem a necessidade de esperar pacientemente o aparecimento raro de mutações favoráveis à domesticação.

A nossa hipótese naturalmente não é completamente nova. Uma vez que, como já dissemos, tôdas as possibilidades da origem do milho já foram discutidas, isto não deve ser admirado, e basta citar os trabalhos de HARSHBERGER (1896, 1911) e COLLINS (1912, 1918, 1919, 1931) discutidos por MANGELSDORF and REEVES (1939, pp. 63-64).

B — A hipótese da hibridação e o "inbreeding"

Em seguida mencionaremos mais um ponto que me parece indicar claramente que uma hibridação interespecífica faz parte da origem do milho cultivado. São os fatos geralmente reunidos sob o título "inbreeding and outbreeding", de acôrdo com o título do livro de EAST and JONES (1919) que reunia os fatos e as teorias pela primeira vez.

O milho comum contém sempre um grande número de fatores mendelianos que causam esterilidade ou letalidade quando homozigotos e são completamente inofensivos quando heterozigotos. Eles são responsáveis pelo fenômeno de "inbreeding" do milho numa forma tão extrema como em nenhuma outra espécie. A tentativa de explicar a acumulação de fatores de esterilidade e de letalidade unicamente como o efeito da reprodução cruzada, parece-me bastante forçada.

Plantas com métodos que proibem completamente a auto-

fecundação como a autoesterilidade em *Anthirrinum*, *Petunia*, *Nicotiana*, *Brassica*, etc., ou com uma separação dos sexos como em *Canabis*, *Carica*, etc., são mais extremas na proibição ou impossibilidade da autofecundação. Quando nós conseguimos autofecundações, usando a pseudo-fertilidade genética ou fisiológica no primeiro caso e formas hermafroditas no segundo, notamos uma certa redução de vigor e o aparecimento de gens letais ou sub-letais. Porém, a redução de vigor nunca é tão forte como no milho, e é geralmente possível encontrar linhagens que são resistentes contra o "inbreeding", o que até hoje era impossível no milho. De outro lado, teosinto, com uma organização muito semelhante no seu modo de reprodução a certas linhagens de milho, é imune contra o "inbreeding".

O milho comum porém é absolutamente diferente dos casos citados. Não existe evidentemente nenhuma linhagem de milho domesticado que fôsse imune contra a degeneração do "inbreeding". Os geneticistas e práticos modernos não conseguiram achar uma tal linhagem que teria muito valor prático. Dentro de muitas linhagens de milho cultivado pelos índios do Brasil, do Paraguai e da Bolívia, todos são extremamente sujeitos ao "inbreeding", e de tal modo que depois de uma ou duas autofecundações a manutenção das linhagens é muitas vezes difícil ou impossível. Sempre temos que registrar a presença de numerosos gens, inofensivos quando heterozigotos e prejudiciais quando homozigotos.

No milho não existe um dispositivo eficiente que impeça uma autofecundação natural. Na maioria das linhagens o florescimento da flecha e da espiga coincide e quando não há vento demais o pólen pesado cai normalmente, alcançando as barbas do mesmo indivíduo e dos seus vizinhos no campo. Uma forte protandria ou protoginia poderia impedir uma autofecundação, porém ela é somente encontrada em algumas linhagens. Nenhum impedimento fisiológico existe com respeito a cruzamento entre indivíduos irmãos ou parentes de qualquer grau.

O modo de reprodução e a biologia da polonização em milho de nenhum modo podem explicar a acumulação de tantas mutações, recessivas e prejudiciais, durante o longo processo de evolução.

Quanto ao tamanho das populações de milho nas quais as mutações deviam ter sido acumuladas, elas provavelmente são formadas por alguns milhares de indivíduos com cerca de 4 plantas por metro quadrado. De outro lado não deveríamos esquecer que a eliminação é grande. Cada espiga contém 100 a

400 grãos, mais ou menos, mas para a manutenção da população apenas um deles é o suficiente.

Assim, devemos constatar que não existe em milho um mecanismo contra a autofecundação e que também a seleção contra gens desfavoráveis será grande.

A teoria da hibridação interespecífica oferece de outro lado um mecanismo bem diferente. É um fato já conhecido nos tempos pré-mendelianos desde os trabalhos de KOLREUTER, que muitos híbridos interespecíficos são luxuriantes e providos de um vigor muito maior do que as espécies paternas. Igualmente sabemos que em muitos desses cruzamentos formas fracas e estéreis aparecem nas gerações seguintes, a partir de F₂.

Agora é preciso achar o mecanismo que agiu em favor da conservação justamente dos heterozigotos. A seleção natural dificilmente pode explicar a sua manutenção exclusiva, mas não devemos esquecer que se trata da filogenia de uma planta doméstica. É bem provável que os híbridos iniciais com as suas combinações de caracteres das duas espécies paternas e com o seu vigor pronunciado, impressionaram os índios e os induziram a tentar selecionar a seu favor.

A existência de uma tal seleção do lado dos índios não pode ser posta em dúvida. Estudei nos últimos anos milho indígena da região central da América do Sul e sempre encontrei a mesma situação: as linhagens eram relativamente uniformes em relação a certos caracteres da espiga, da coloração dos grãos, etc., o que pode apenas ser explicado como consequência de uma seleção anterior. Ao mesmo tempo eles são em geral muito produtivos e altamente heterozigotos com referência aos gens do vigor, sofrendo uma forte degeneração quando autofecundados. Como os índios executam em detalhe a seleção de espigas e sementes para a plantação, ainda hoje é desconhecido; sabemos apenas que os índios da referida região, que nunca desenvolveram uma grande civilização, são capazes de manter uma uniformidade de certos caracteres, combinada com uma alta heterozigotia em todos os gens de vigor. Eles executam, sem conhecimento de genética, um trabalho de seleção na direção postulada pelos melhoristas modernos: obtenção do "milho híbrido".

Para resumir, não existe no milho um mecanismo que permita a acumulação de gens letais e de esterilidade durante a seleção natural e sobre um prazo muito longo por um processo lento com a mutação. Mas um cruzamento interespecífico daria imediatamente a combinação heterozigota de gens letais e

de esterilidade balançada. Para a sua manutenção será necessário uma seleção inteligente e dirigida pelo homem, contrária à seleção natural, e que tenda a manter a heterozigotia. Verificamos que os índios ainda hoje são capazes de executar uma tal seleção.

C — Esterilidade dos Homozigotos TuTu

A hipótese da transferência de alguns gens de *Tripsacum* ao milho, em consequência do cruzamento, também pode explicar um outro fenômeno especial: a esterilidade das formas homozigotas TuTu do milho e a esterilidade parcial dos heterozigotos Tutu.

Sendo o gen *Tunicata* um gen “remanescente”, seria difícil explicar porque justamente a combinação antiga e selvagem tornou-se estéril pelo acúmulo, durante a domesticação, de gens mutados. Mas a hipótese de cruzamentos implica que o gen Tu do milho selvagem foi substituído pelo gen tu da espécie tripsacóide. A seleção inicial dos índios consistiu em transferir, além do gen tu, outros gens da espécie tripsacóide para o milho. Os índios não faziam nenhum esforço para harmonizar o gen Tu do milho selvagem com os gens transferidos da espécie tripsacóide e podia-se até supor que seu valor como variedade foi aumentado pela impossibilidade de cultivar e distribuir linhagens puras e homozigotas TuTu.

D — A segunda fase da domesticação

Em resumo poderemos formular a nossa hipótese da maneira seguinte:

Existiu uma espécie de milho selvagem com inflorescências que correspondem aproximadamente ao nosso tipo 3 (Fig. 10). As plantas possivelmente eram bisanuais, com uma adaptação a um período intercalado de repouso forçado. Esta espécie podia ainda existir hoje dentro das *Andropogonaceae*.

Esta espécie cruzou-se acidentalmente com uma espécie tripsacóide. Não podemos dizer com certeza que se tratava de fato de uma das espécies hoje existentes de *Tripsacum* e também é provável que o cruzamento fôsse bastante raro, e os híbridos obtidos ainda altamente estéreis, do mesmo modo como nos cruzamentos entre o milho moderno e *Tripsacum dactyloides* (MANGELSDORF and REEVES, 1939) e *T. australe* (GRANER e ADDISON, 1945). Mas os híbridos com as suas espigas não quebradiças interessaram os índios, os quais começaram o seu trabalho de domesticação e melhoramento, selecionando plantas de milho selvagem com alguns gens de *Tripsa-*

cum combinando o gen tu e inflorescências rígidas que não mais soltaram os grãos. Além de aproveitar-se da segregação inicial, os índios acumularam novas mutações, especialmente para o aumento do tamanho das espigas e grãos e do número de fileiras.

A forma ancestral tinha uma inflorescência na qual as espiguetas foram distribuídas em lados opostos do eixo com uma filotaxia de 1 : 2. Com um aumento das fileiras, com ou sem desdobramento do número de espiguetas, a filotaxia apenas mudou, sem seguir porém a norma da filotaxia, e sem passar por 1 : 3, 2 : 5, etc. Havia transformações da espiral que às vezes se dividiu em círculos ou verticilos de um número de espiguetas, todos na mesma altura. Simultaneamente se deu uma introdução de uma nova simetria, um processo que nós encontramos não raramente em caules muito grossos como *Cactaceae*, *Euphorbiaceae* e nos cones das *Gymnospermas*. A espiral foi subordinada a um arrançamento em fileiras longitudinais. Num indivíduo do gênero *Cereus*, com hastes de mais de 25 cm. de diâmetro e mais do que 10 fileiras longitudinais podemos construir de fato várias espirais de fôlhas, sem saber qual a filotaxia real.

Em resumo, existiu no início uma inflorescência com uma filotaxia 1 : 2, sendo as duas fileiras distribuídas nos lados opostos da ráquis. Posteriormente, com a seleção de espigas com uma ráquis mais grossa, manteve-se o arranjo rígido em fileiras longitudinais, e esta nova simetria se sobrepoz à filotaxia em espiral.

As vezes a espiga grossa do milho foi explicada como uma anomalia patológica, isto é, uma forma de fasciação. Porém, órgãos fasciados são em geral muito mais irregulares do que as espigas de milho, revelando assim a sua natureza patológica e não balanceada.

LANGHAM (1940) tentou reviver uma outra hipótese: que a espiga fôsse uma estrutura composta, devido à fusão de um número de galhos laterais com o galho principal ou "central spike".

Para evitar mal entendidos e confusão, devemos estudar em primeiro lugar o tipo de ramificação em milho e seus parentes.

Nós encontramos em *Tripsacum australe* (Fig. 14) a situação mais simples. Aqui as hastes principais terminam numa inflorescência pouco ramificada. A "central spike" tem em lados opostos as espiguetas, porém a primeira ou às vezes duas ou três espiguetas da base se desenvolvem mais, formando outras

inflorescências. Exceto quanto a sua posição, a inflorescência central não se distingue muito das laterais. A mesma haste que termina numa inflorescência assim ramificada produz outros ramos laterais da base das folhas. Estes, por sua vez, terminam acima da última folha em inflorescências que em geral não são mais ramificadas. Nas axilas da folha destes galhos aparecem mais tarde outros ramos, que também terminam em inflorescências, não ramificadas.

Este tipo de ramificação se repete também em *Zea* e *Euchlaena*. As inflorescências terminais em cima da última folha de hastes e ramos, podem ser simples ou ramificadas. Depois seguem alguns nós com folhas sem galhos laterais e depois um número variável de folhas com ramificações axilares. Quando a inflorescência terminal é ramificada, os ramos não são mais localizados nos lados opostos em duas fileiras, como em *Tripsacum*, mas formam verticilos ou seguem uma espiral. Eles podem também ser por sua vez ramificados.

Esta estrutura é bem clara nas flechas, isto é, nas inflorescências terminais de hastes. (Fig. 3, A).

Nos ramos laterais da primeira ordem notamos em geral uma diferença: os internódios imediatamente em baixo da inflorescência terminal e que não produzem gemas axilares ficam curtos. As ramificações secundárias dos nós mais baixos podem desenvolver-se. Isto é bem claro na Fig. 12 A, de galhos laterais de milho com uma espiga não ramificada terminal, seguida por alguns internódios curtos e curvos, que são cobertos pelas palhas. Mais para baixo seguem algumas espigas secundárias, cada uma com seus nós portadores de palhas.

A Fig. 12, B representa as inflorescências laterais do híbrido milho x teosinto. A principal diferença entre 12 A e B é que os galhos laterais da segunda ordem são ramificados também, com uma espiga terminal e outras espigas, representando ramos de terceira ordem.

Não devemos confundir a ramificação dos galhos laterais e a ramificação da inflorescência terminal. Estes últimos sempre são localizados em cima da última folha e, quando há palhas, incluídos em conjunto dentro das mesmas. Ramificações desta natureza em espigas são ilustradas do milho na Fig. 11 e de descendentes do híbrido *Zea* x *Euchlaena* na Fig. 12C até E). Nas fotos é bem visível que, mesmo nestas espigas ramificadas, temos um "central spike", o qual agora é a espiga central com mais do que quatro fileiras.

Uma fusão verdadeira dentre estas inflorescências ou espigas ramificadas não encontrei nos muitos casos estudados em

detalhe. As vezes elas estão muito juntas e os seus grãos intercalados, como na Fig. 11, A, em consequência do espaço limitado dentro das palhas bastante fechadas.

Chegamos assim à conclusão que nem as formas, às vezes hereditárias, de espigas ramificadas, nem as formas correspondentes que aparecem no cruzamento *Zea x Euchlaena*, dão suporte à hipótese da fusão. Sempre podemos encontrar mesmo nelas o eixo principal ("central spike") que já tem fileiras múltiplas. As inflorescências, sejam elas espigas ou flechas, têm no seu eixo principal o número aumentado de fileiras quando as laterais têm, com raras exceções, apenas 2 fileiras duplas com uma filotaxia de 1 : 2.

4 — DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

A — A distribuição do milho indígena

Considerando agora a questão geográfica, devemos distinguir três problemas: a distribuição do milho selvagem hipotético, a zona de origem do milho cultivado e finalmente os principais centros de domesticação mais intensiva.

Sobre o primeiro ponto, nada podemos afirmar até agora. Considerando acima a possibilidade de se tratar de uma planta biennial e adaptada a dois ciclos relativamente curtos, queríamos especialmente pôr em foco a possibilidade de que estas plantas eram adaptadas a condições ecológicas completamente diferentes daquelas do milho cultivado. Esta possibilidade dificulta ainda mais qualquer especulação sobre a verdadeira distribuição do suposto milho selvagem.

A zona da domesticação inicial é um pouco mais fácil de determinar. Devemos esperar que nesta zona encontraremos o maior número de caraterísticos primitivos ainda hoje em existência. Esta zona é evidentemente o que nós chamamos o triângulo central da América do Sul, que se estende desde a base dos Andes no Oeste do Chaco no Paraguai até Mato Grosso no Brasil de um lado, até quase o Atlântico no Este. No Norte a zona é limitada pela bacia do Amazonas e no Sul pelos rios São Francisco, Paraná e Paraguai. BRIEGER e CUTLER (não publicado) fizeram um estudo detalhado do milho indígena desta vasta região e com resultados muito surpreendentes.

Notamos em primeiro lugar que há uma grande uniformidade sobre toda esta área, apesar de sua população índia muito espalhada e dividida em tribus, isoladas e inimigas umas das outras.

Encontrámos com frequência, como já mencionámos acima, característicos primitivos como espigas finas com ráquis flexíveis, glumas bem desenvolvidas sem a presença do gen *tunicata*, grãos que se separam muito facilmente do sabugo e que têm uma cor marron, em consequência de gens do pericárpio, aleurona e endosperma.

Além disso não são raros os vestígios de caracteres que podemos atribuir a influências de gens *Tripsacum* como flores machos na parte apical da espiga, restos das "tapas" e desenvolvimento de uma região córnea nas glumas, todos estes sendo caracteres "tripsacóides" que parecem desconhecidos no milho indígena de outras regiões. Devemos esperar na região do cruzamento original um maior número de formas segregadas ainda existentes.

Nesta região existe hoje *Tripsacum australe* numa zona bastante limitada, isto é, no Oeste da base dos Andes, nas partes baixas da Bolívia e no Estado de Mato-Grosso, no Brasil, e no Chaco paraguáio. Assim parece possível que esta seja a região mais exata na qual aconteceu o primeiro cruzamento entre o milho selvagem e *Tripsacum* que deu origem ao milho doméstico. É interessante notar que MANGELSDORF and REEVES também chegaram à mesma conclusão, baseados em considerações bem diferentes. Da região original na base dos Andes o milho derivado dos híbridos iniciais espalhou-se sobre o triângulo Central no Leste, sem sofrer muitas alterações. Ele subiu os Andes e na civilização dos Incas, no Perú e na Bolívia, ele continuou a desenvolver-se. Na parte andina da Bolívia e Perú a variação das formas cultivadas é bastante grande, mas agora sem o aparecimento dos característicos de *Tripsacum*.

No outro lado do triângulo, na região costeira do Atlântico, desde as Antilhas até a Argentina, o tipo de milho predominante é o Cateto, um milho duro, intensamente colorido de laranja e que falta dentro do triângulo e nos Andes. A sua relação com os milhos do triângulo central de um lado e com os tipos cultivados nos Andes ainda é obscura. É possível que ele se originasse num outro centro de domesticação no Uruguai ou Argentina. Ele combina a cor de muitos tipos indígenas do Triângulo central, com o amido duro e córneo do "Pipoca Pontudo".

Outros centros de domesticação com uma variação bastante grande existem na América Central, no México e na Guatemala (MANGELSDORF and REEVES, 1939, MANGELSDORF and CAMERON, 1942). Mas a evolução do milho da América Central é um assunto sobre o qual não quero ainda emitir uma opinião, pois me faltam conhecimentos detalhados sobre o mi-

lho cultivado pelos índios nas partes do Norte e Noroeste da América do Sul sem os quais será impossível estabelecer uma relação entre os milhos indígenas do Norte e Sul desta zona.

B — Distribuição de gens

Nas discussões sobre a distribuição geográfica devemos nos referir apenas a milho que pode ser considerado como realmente indígena, pois não pode haver dúvida que, depois da colonização do Continente Americano pelos homens brancos, houve muita redistribuição secundária do milho.

Tomamos acima apenas em consideração os característicos gerais destes tipos nativos de milho, e me parece prematuro entrar já em uma discussão detalhada sobre a distribuição geográfica de determinados gens e de particularidades citológicas. A distribuição dos gens é um ponto que somente depois de um estudo detalhado poderá ser resolvido. As nossas análises do milho do triângulo central e do milho andino indicam a presença de muitos gens diferentes para a coloração da planta, palhas, glumas e grãos. Porém, comparações de fenótipos não servem para a execução destas comparações sendo necessário executar análises genéticas completas.

C — Distribuição dos "knobs" nos cromossômios

A principal peculiaridade citológica do milho até hoje estudada do ponto de vista da sua distribuição geográfica são os chamados "knobs", engrossamentos nos cromossômios que podem aparecer em determinados lugares dos mesmos. Longley (1939) descreveu dezoito lugares e Mangelsdorf and Cameron (1942) adicionaram três outros, sendo o número máximo de "knobs", até hoje observado de 16 por célula.

A distribuição geográfica dos "knobs" foi estudada por Longley (1938), Mangelsdorf and Cameron (1942) e Reeves (1944). Os resultados destes estudos demonstraram o seguinte: Na América Central desde a Colombia até o México o número médio de "knobs" por célula é alto (Guatemala: 9,2, México 8,0 e Colombia 7,0), mas é muito baixo nos Andes (Equador 0,0, Perú 0,4 e Bolívia 0,3). Nos outros países das Américas encontramos números médios de "knobs", entre 2,0 e 5,5.

Os dados de Reeves (1944) referentes aos países da América do Sul devem, ao meu ver, ser tratados com cuidados, pela razão seguinte: Do Brasil foram estudados 22 indivíduos de

12 variedades, do Paraguay 10 plantas de 4 variedades, do Uruguai 1 planta de uma variedade e da Argentina 3 indivíduos de 3 variedades. **Reeves** não explica o que ele considera como "variedade". **Mangelsdorf and Cameron** consideram a progênie de cada espiga colhida no país de origem como uma "variedade" (1942 pg. 220). Este uso não me parece estar de acôrdo com as definições usuais do conceito de variedade. Além disso, a variabilidade de material do mesmo lugar é muito grande, no mínimo de acôrdo com os estudos de **Mangelsdorf and Cameron** (1942) sôbre o milho Guatemala. Não é também claro se os dados se referem a tipos hoje cultivados em maior escala, ou se se trata de número de "knobs" em milho, realmente indígena.

Os diferentes países são tratados de modo muito diferente. Do Perú e Bolívia foram estudados 31 e 13 "variedades" respectivamente, quando Brasil, Uruguai e Argentina são representados por 12,1 e 3 "variedades" apenas.

Reeves calcula a regressão linear entre o número médio de "knobs" por país e a distância dêste país da Guatemala, obtendo um valor correspondente de t que é justamente maior do que o 5% limite, (t calculado = 2,38; t esperado = 2,18). Porém o modo de calcular estas distâncias me parece muito sumário. Qual é atualmente a distância mais curta terrestre de países do tamanho do Brasil ou dos Estados Unidos em relação a Guatemala? A regressão seria também suficientemente grande quando fôsse tomada em consideração a variação do número de knobs em cada país? Só depois da solução destas perguntas, e quando forem usadas apenas linhagens realmente indígenas dos diferentes países, as conclusões gerais de **Reeves** poderão ser consideradas como bastante seguras.

Chegamos assim à conclusão que por enquanto está comprovado por **Reeves** um fato, aliás altamente importante: a frequência alta de "knobs" na América Central e a sua frequência baixa nos Andes de Bolívia-Perú.

Este fato parece ser relacionado com outro: a ausência de **Euchlaena** nos Andes e a sua frequência na América Central, especialmente em Guatemala. **Mangelsdorf and Cameron** "assume that chromosome knobs of present-day corn were derived from **Tripsacum** through teosinte and on that assumption the number of knobs becomes a rough measure of the amount of **Tripsacoid** admixture" (1942, pg. 223). Se compararmos esta conclusão com outra dos mesmos autores: "The combined evidence suggests that a South-American variety of corn hybridized with a species of **Tripsacum** admixture". (1942 pg.

247-248) a situação torna-se ainda mais complicada. Evidentemente a chave do problema reside num estudo detalhado do número e da natureza dos "knobs" em *Tripsacum*.

O número básico de *Tripsacum* parece ser $n = 18$. Longley (1924) inicialmente relatou que todas as espécies por ele estudadas tinham $n = 35$ cromossômios, um número que mais tarde foi corrigido para $n = 36$. Mangelsdorf and Reeves consideram as formas de 72 cromossômios como auto-tetraplóides e as suas divisões meióticas parecem ser bastante irregulares (Longley 1924, Mangelsdorf and Reeves, 1939). Longley (1937, Mangelsdorf and Reeves (1939) encontraram $n=18$ em *T. floridanum*, e em algumas formas de *T. dactyloides* e Graner e Addison (1945) determinaram o mesmo número em *T. australe*.

Longley (1937,1941) deu um desenho esquemático de *T. floridanum* com "knobs" terminais em todos os 18 cromossômios, quando Graner e Addison (1945) não encontraram "knobs" em *T. australe*. Mangelsdorf and Reeves (1939) não fizeram referência alguma sobre o número dos "knobs" nos híbridos de milho e *Tripsacum*.

Assim me parece indispensável esperar os resultados de uma análise bem mais completa dos citologistas de todas as espécies deste gênero. Numa publicação recente Cutler and Anderson (1941) distinguem sete espécies: *T. floridanum* e *T. dactyloides* são encontrados nos Estados Unidos e *T. lanceolatum* desde o Arizona até Guatemala; *T. Fasciculatum* e *T. pilosum* são espécies da América Central. Finalmente devemos mencionar *T. latifolium*, encontrado tanto na América Central como no Norte da América do Sul e *T. australe*. A área da última espécie, que anteriormente era considerada apenas como pertencendo a *T. dactyloides*, é muito extensa e os autores citam lugares do Paraguai, Bolívia, Brasil, Equador, Columbia e Guiana Britânica.

A situação torna-se ainda mais complicada se incluímos em nossas considerações também os B-cromossômios de milho que recentemente foram considerados por Randolph (1941, pg. 612) como sendo talvez derivados de cromossômios de *Tripsacum*.

Se aceitarmos provisoriamente os resultados obtidos, a frequência dos "knobs" em *Zea* e *Tripsacum* é paralela: poucos ou nenhum "knob" são encontrados na América do Sul em ambos os gêneros, e muitos "knobs" na América Central e mais para o Norte.

5 — CONCLUSÕES

1) Discutindo resumidamente as relações entre milho e teosinto não podemos achar provas convincentes nem a favor da hipótese de Ascherson que o milho é um descendente do outro gênero, nem da hipótese de Mangelsdorf and Reeves que o teosinto é um descendente do milho *Zea Mays* e *Euchlaena mexicana* são espécies muito parentes botânica, genética e citologicamente, mas não dispomos ainda de material suficiente para definir de modo convincente o tipo do parentesco.

2) Aceitamos com MANGELSDORF and REEVES a antiga hipótese de ST. HILAIRE que o milho *tunicata* é a forma, hoje existente, que mais se aproxima ainda ao milho antigo selvagem. Em vista da grande variabilidade fenotípica das plantas *tunicata* (BRIEGER, 1943, 1944) não podemos esperar que o fenótipo mais comum hoje fôsse o fenótipo deste "wild relic gene" na fase anterior à domesticação. Assim foi a nossa primeira tarefa tentar a reconstrução fenotípica e genotípica da forma *tunicata* selvagem.

3) MANGELSDORF and REEVES (1939) formularam a hipótese que a forma selvagem *TuTu* tinha a flecha transformada em órgão hermafrodito. Como demonstrámos (BRIEGER, 1943) em formas mais extremas do que aquelas obtidas e fotografadas pelos dois autores mencionados, este tipo não explica a origem do órgão mais importante do milho doméstico: a espiga. De fato, as plantas em questão não só mantêm a sua espiga lateral mas o eixo central ("central spike") da flecha é transformado em uma segunda espiga.

4) Como orientação para os meus trabalhos, estabeleci em primeiro lugar as exigências mínimas, que devem ser satisfeitas para reduzir a espiga do milho cultivado a um órgão primitivo e adaptado à vida selvagem:

| | | |
|-----------------------|---------------------|-------------------------------|
| número de fileiras | : $2 \times 1 = 2$ | $2 \times 2 = 4$ |
| proteção das sementes | : pela ráquis | pelos glumas |
| separação dos grãos | : ráquis quebradiça | grãos se separam do da ráquis |

A primeira série de caracteres é encontrada nos gêneros *Tripsacum* e *Euchlaena*. Característicos aproximando-se da segunda solução se encontram separadamente espalhados em algumas linhagens de milho.

Resolvi tentar reproduzir uma forma selvagem da constituição *TuTu*, combinando com ela os modificadores "selva-

gens" necessários. Uma vez que parece que elas foram perdidas na domesticação, foi necessário substituir êstes gens perdidos em milho pelos gens análogos de uma espécie selvagem, sendo **Euchlaena mexicana** a única espécie que pode ser usada para dar híbridos razoavelmente férteis.

A seleção teve um sucesso inesperado e uma forma foi obtida já no segundo "backcross" para **Euchlaena**, que era bastante diferente desta espécie, satisfazendo tôdas as exigências estabelecidas sob o ponto 4 (Fig. 10).

6) Futuros estudos, já encaminhados, devem decidir se poderemos ir mais para a frente, introduzindo neste milho selvagem, reconstruído, os seguintes caraterísticos, todos observados no milho indígena do triângulo central da América do Sul: dois ou mais grãos por espigueta, espiga lateral ramificada, flecha hermafrodita, ou então, em resumo, uma estrutura idêntica das inflorescências, lateral e terminal.

7) Em seguida inverti a pergunta e resolvi decidir como desta forma hipotética selvagem pode-se chegar à forma cultivada de milho. A suposição do acúmulo de mutações parece um pouco forçada, porém um cruzamento inicial com uma espécie tripsacóide, se razoavelmente fértil, oferecia imediatamente um amplo material para a seleção. Assim, supomos que nesta espécie tripsacóide contribui o gen **tu** para a redução das glumas, e que dois modos de separação, na base dos grãos e na base dos internódios, se contrabalançaram de modo a dar espigas não quebradiças.

A teoria da hibridação inicial na passagem do milho selvagem para o milho cultivado explica também dois outros fenômenos, o efeito do "inbreeding and outbreeding" e a esterilidade dos homozigotos **TuTu**.

8) Como suporte à teoria da origem híbrida do milho cultivado podemos citar o aparecimento no milho indígena do centro da América do Sul de caraterísticos que correspondem aos caracteres do hipotético milho selvagem ou de **Tripsacum**. Igualmente, caracteres do milho selvagem foram encontrados em **Tripsacum australe** de Mato-Grosso.

9) Formulámos a hipótese de que a origem do milho doméstico se deu na região que hoje pertence ao Chaco, Bolívia e Paraguai e à parte leste do Estado de Mato-Grosso. Aqui o milho selvagem, a distribuição geográfica do qual ainda é obscura, e uma espécie "tripsacóide", talvez o próprio **Tripsacum australe**, foram cruzados, e iniciada pelos índios a seleção de domesticação.

10) Depois se desenvolveram dois centros de domestica-

ção: um na parte baixa, no triângulo central da América do Sul, entre os Andes, o vale do Amazonas e o vale dos rios São Francisco, Grande e Paraguai, e outro nos Andes da Bolívia e Perú.

Os dois centros de domesticação do México e do Paraguai, o último descrito recentemente por MANGELSDORF and CAMERON (1942) parecem bem separados dos primeiros centros.

A zona do Cateto finalmente ocupa a área costeira desde as Antilhas até a Argentina. Talvez o Cateto originou-se na parte sul-este do triângulo central (S. Paulo-Golaz), mas havia migrações tanto na direção sul-norte como norte para sul.

11) Um estudo da literatura referente à distribuição geográfica dos "knobs" nos cromossômios, indica a existência de duas regiões principais: a zona Andina (Bolívia e Perú) com poucos "knobs" e a zona da América Central (México e Guatemala) com muitos "knobs" por célula. Uma decisão sobre a situação nas partes restantes depende de novas análises, especialmente das espécies de *Tripsacum* e do milho do triângulo Central, estudos estes já iniciados.

ABSTRACT

1) It may seem rather strange that, in spite of the efforts of a considerable number of scientists, the problem of the origin of indian corn or maize still has remained an open question. There are no fossil remains or archaeological relics except those which are quite identical with types still existing. (Fig. 1). The main difficulty in finding the wild ancestor — which may still exist — results from the fact that it has been somewhat difficult to decide what it should be like and also where to look for it.

2) There is no need to discuss the literature since an excellent review has recently been published by MANGELSDORF and REEVES (1939). It may be sufficient to state that there are basically two hypotheses, that of ST. HILAIRE (1829) who considered Brazilian pod corn as the nearest relative of wild corn still existing, and that of ASCHERSON (1875) who considered *Euchlaena* from Central America as the wild ancestor of corn. Later hypotheses represent or variants of these two hypotheses or of other concepts, however generally with neither disproving their predecessors nor showing why the new hypotheses were better than the older ones. Since nearly all possible combinations of ideas have thus been put forward, it har-

dly seems possible to find something theoretically new, while it is essential first to produce new facts.

3) The studies about the origin of maize received a new impulse from MANGELSDORF and REEVES's experimental work on both *Zea-Tripsacum* and *Zea-Euchlaena* hybrids. Independently I started experiments in 1937 with the hope that new results might be obtained when using South American material. Having lost priority in some respects I decided to withhold publication until now, when I can put forward more concise ideas about the origin of maize, based on a new experimental reconstruction of the "wild type".

4) The two main aspects of MANGELSDORF and REEVES hypothesis are discussed. We agree with the authors that ST. HILAIRE's theory is probably correct in so far as the tunicata gene is a wild type relic gene, but cannot accept the reconstruction of wild corn as a homozygous pod corn with a hermaphroditic tassel. As shown experimentally (Fig. 2-3) these tassels have their central spike transformed into a terminal, many rowed ear with a flexible rachis, while possessing at the same time the lateral ear. Thus no explanation is given of the origin of the corn ear, which is the main feature of cultivated corn (BRIEGER, 1943). The second part of the hypothesis referring to the origin of *Euchlaena* from corn, inverting thus ASCHERSON's theory, cannot be accepted for several reasons, stated in some detail. The data at hand justify only the conclusion that both genera, *Euchlaena* and *Zea*, are related, and there is as little proof for considering the former as ancestor of the latter as there is for the new inverse theory.

5) The analysis of indigenous corn, which will be published in detail by BRIEGER and CUTLER, showed several very primitive characters, but no type was found which was in all characters sufficiently primitive. A genetical analysis of Paulista Pod Corn showed that it contains the same gene as other tunicates, in the IV chromosome, the segregation being complicated by a new gametophyte factor Ga3. The full results of this analysis shall be published elsewhere. (BRIEGER). Selection experiments with Paulista Pod Corn showed that no approximation to a wild ancestor may be obtained when limiting the studies to pure corn. Thus it seemed necessary to substitute "domesticated" by "wild type" modifiers, and the only means for achieving this substitution are hybridizations with *Euchlaena*. These hybrids have now been analysed in fourth generation, including backcrosses, and, again, the full data will be published elsewhere, by BRIEGER and ADDISON. In

the present publication three forms obtained will be described only, which represent an approximation to wild type corn.

6) Before entering however into detail, some arguments against ST. HILAIRE's theory must be mentioned. The pre-mendelian argument, referring to the instability of this character, is explained by the fact that all fertile pod corn plants are heterozygous for the dominant Tu factor. But the sterility of the homozygous TuTu, which phenotypically cannot be identified, is still unexplained. The most important argument against the acceptance of the Tunicata factor as wild type relic gene was removed recently by CUTLER (not yet published) who showed that this type has been preserved for centuries by the Bolivian indians as a mystical "medicine".

7) The main botanical requirements for transforming the corn ear into a wild type structure are stated, and alternative solutions given. One series of these characters are found in *Tripsacum* and *Euchlaena*: 2 rows on opposite sides of the rachis, protection of the grains by scales, fragility of the rachis. There remains the other alternative: 4 rows, possibly forming double rows of female and male spikelets, protection of kernels by their glumes, separation of grains at their base from the cob which is thin and flexible.

8) Three successive stages in the reconstruction of wild corn, obtained experimentally, are discussed and illustrated, all characterized by the presence of the Tu gene.

a) The structure of the F1 hybrids has already been described in 1943. The main features of the Tunicata hybrids (Fig. -8), when compared with non-tunicate hybrids (Fig. 5-6), consist in the absence of scaly protections, the fragility of the rachis and finally the differentiation of the double rows into one male and one female spikelet. As has been pointed out, these characters represent new phenotypic effects of the tunicate factor which do not appear in the presence of pure maize modifiers.

b) The next step was observed among the first backcross to teosinte (Fig. 9). As shown in the photography, Fig. 9 D, the features are essentially those of the F1 plants, except that the rachis is more teosinte like, with longer internodes, irregular four-row-arrangement and a complete fragility on the nodes.

c) In the next generation a completely new type appeared (Fig. 10) which resembles neither corn nor teosinte, mainly in consequence of one character: the rachis is thin and flexible and not fragile, while the grains have an abscission layer at

the base. The medium sized, pointed, brownish and hard granis are protected by their well developed corneous glumes.

This last form may not yet be the nearest approach to a wild grass, and I shall try in further experiments to introduce other changes such as an increase of fertile flowers per spikelet, the reduction of difference between terminal and lateral inflorescences, etc.. But the nature of the atavistic reversion is alveadwy such that it alters considerably our expectation when looking for a still existing wild ancestor of corn.

9) The next step in our deductions must now consist in an reversion of our question. We must now explain how we may obtain domesticated corn, starting from a hypothetical wild plant, similar to type c. Of the several changes which must have been necessary to attract the attention of the Indians, the following two seem to me the most important: the disappearance of all abscission layers and the reduction of the glumes. This may have been brought about by an accumulation of mutations. But it seems much more probable to assume that some crossing with a tripsacoid grass or even with *Tripsacum australe* may have been responsible. In such a cross, the two types of abscission layer would be counterbalanced as shown by the F1-hybrids of corn, *Tripsacum* and *Euchlaena*. Furthermore in later generations a tu-allele of *Tripsacum* may become homozygous and substitute the wild tunicate factor^a of corn.

The hypothesis of a hybrid origin of cultivated corn is not completely new, but has been discussed already by HARSH-BERGER and COLLINS. Our hypothesis differs from that of MANGELSDORF and REEVES who assume that crosses with *Tripsacum* are responsible only for some features of Central and North American corn.

h

10) The following arguments give indirects evidence in support of our hypothesis:

a) Several characters have been observed in indigenous corn from the central region of South America, which may be interpreted as "tripsacoid".

b) Equally "zeoid" characters seem to be present in *Tripsacum australe* of central South -America.

c) A system of unbalanced factors, combined by the intergeneric cross, may be responsible for the sterility of the wild type tunicata factor when homozygous, a result of the action of modifiers, brought in from *Tripsacum* together with the tu-allele.

d) The hybrid theory may explain satisfactorily the presence of so many lethals and semilethals, responsible for the

phenomenon of inbreeding in cultivated corn. It must be emphasized that corn does not possess any efficient mechanism to prevent crossing and which could explain the accumulation of these mutants during the evolutionary process. Teosinte which has about the same mechanism of sexual reproduction has not accumulated such genes, nor self-sterile plants in spite of their pronounced preference for crossing.

11) The second most important step in domestication must have consisted in transforming a four rowed ear into an ear with many rows. The fusion theory, recently revived by LANGHAM is rejected. What happened evidently, just as in succulent plants (Cactus) or in cones of Gymnosperms, is that there has been a change in phyllotaxy and a symmetry of longitudinal rows superimposed on the original spiral arrangement.

12) The geographical distribution of indigenous corn in South America has been discussed. So far, we may distinguish three zones. The most primitive corn appears in the central lowlands of what I call the Central Triangle of South America: east of the Andies, south of the Amazone-Basin, Northwest of a line formed by the rivers São Francisco-Paraná and including the Paraguay-Basin. The uniformity of the types found in this extremely large zone is astonishing (BRIEGER and CUTLER). To the west, there is the well known Andian region, characterized by a large number of extremely diverse types from small pop corn to large Cuzco, from soft starch to modified sweet corn, from large cylindrical ears to small round ears, etc.. The third region extends along the atlantic coast in the east, from the Caribbean Sea to the Argentine, and is characterized by Cateto, an orange hard flint corn.

The Andean types must have been obtained very early, and undoubtedly are the result of the intense Inca agriculture. The Cateto type may be obtained easily by crosses, for instance, of "São Paulo Pointed Pop" to some orange soft corn of the central region.

The relation of these three South American zones to Central and North America are not discussed, and it seems essential first to study the intermediate region of Ecuador, Colombia and Venezuela.

The geographical distribution of chromosome knobs is rapidly discussed; but it seems that no conclusions can be drawn before a large number of *Tripsacum* species has been analysed.

LITERATURA

- ANDERSON, E. and F. G. BLANCHARD. 1942 — Prehistoric maize from Canion del Muerto Am. Journal Bot. 29 : 832-835.
- ARNASON, J. T. 1936 — Cytogenetics of hybrids between *Zea Mays* and *Euchlaena Mexicana* — Genetics 21-: 40-60.
- ASCHERSON, E. 1875 — Über *Euchlaena Mexicana* Schrad. Bot. Ver. Brandenburg. 17 : 76-80.
- BRIEGER, F. G. 1943 — Origem do milho. "Semana da Genética". Rev. Agr. 18 : 409-418.
- BRIEGER, F. G. 1944 — Considerações sobre o mecanismo da evolução. Anais da Escola Sup. de Agric. "Lulz de Queiroz" 1 : 177-211.
- BEADLE, G. W. 1932a — Studies of *Echlaena* and its hybrids with *Zea I*. Chromosome behavior. Zeitsch. Ind. Vererb. 62 : 291-304.
- BEADLE, G. W. 1932b — The relation of crossing over to chromosome association in *Zea-Euchlaena* hybrids. Genetics. 17 : 487-500.
- COLLINS, G. N. 1912 — Origin of maize. Journ. Wash. Acad. Sc. 8 : 42-43.
- COLLINS, G. N. 1923 — An ear of prehistoric maize that resembles the fossil form, *Zea antiqua*. Journal Heredity 14 : 61-64.
- COLLINS, G. N. 1931 — The phylogeny of maize. Bull. Torrery Bot. Club. 57 : 199-210.
- COLLINS, G. N. and J. H. KEMPTON, 1920 — A teosinte-maize hybrid. Journ. Agr. Res. 19 : 1-37.
- CUTLER, H. C. and E. ANDERSON 1941 — A preliminary survey of the genus *Tripsacum* An. Missouri Bot. Garden 28 : 249-269.
- EMERSON, R. A. and G. W. BEADLE, 1932 — Studies of *Euchlaena* and its hybrids with *Zea II*. Crossing over. Zeitsch. Ind. Vererb. 62 : 305-312.
- EMERSON, R. A., G. W. BEADLE and A. FRASER, 1935 — A summary of linkage studies in maize. Cornell Agr. Exp. Sta. Mem. 180 : 1-83.

- GRANER, E. A. and G. O. ADDISON, 1944 — Meiosis em *Tripsacum australe*. Anais da Escola Sup. de Agric. "Luiz de Queiroz" 1 : 213-224.
- HARSHBERGER, J. W. 1893 — Maize, a botanical and economic study: Contr. Bot. Lab. Univers. Pa. 1 : 75-202.
- HARSHBERGER, J. W. 1941 — An unusual form. of maize. Proc. Delaware Inst. Sc 6 : 49-53.
- KEMPTON, J. N. and W. POPNOE. 1937 — Teosinte in Guatemala. Carnegie Inst. Wash. Publ. 483 : 199-218.
- LANGHAM, D. G. 1940 — The inheritance of intergeneric differences in *Zea Euchlaena* hybrids. Genetics 25 : 88-108. (Abstract in Genetics 1939 24 : 78).
- LONGLEY, A. E. 1924 — Chromosomes in maize and maize relatives. Journ. Agr. Res. 54 : 835-862.
- LONGLEY, A. E. 1937 — Morphological characters of teosinte chromosomes. Journ. Agr. Res. 54: 835-862.
- LONGLEY, A. E. 1938 — Chromosomes of maize from North American Indians. Journ. Agr. Res. 56 : 177-195.
- LONGLEY, A. E. 1941 — Knob positions on teosinte chromosomes. Journ. Agr. Res. 62: 401-413.
- MANGELSDORF, P. C. and J. W. CAMERON. 1942 — Western Guatemala, secondary center of origin of cultivated maize varieties. Bot. Museum Leaf. Harvard Univers. 10 : 217-312.
- MANGELSDORF, P. C. and R. G. REEVES. 1938 — The origin of maize. Proc. Nat. Acad. Sc. (U.S.A.) 24 : 303-312
- MANGELSDORF, P. C. and R. G. REEVES. 1939 — The origin of Indian Corn and its relatives. Texas Agr. Exp. Sta. Bull. 574 : 1-315.
- MANGELSDORF, P. C. and R. G. REEVES. 1931 — Hybridization of maize, *Tripsacum* and *Euchlaena*. Journ. Heredity. 22 : 329-343.
- NILSON, H. N. 1928 — Salise Laurina. Die Lösung einer mehrals 100 jährigen phylogenetischen Streitfrage Vhl. Fys. Sakk. Handl. N. F. 39 : 1-89.
- O'MARA, J. G. 1942 — A cytogenetic study of *Zea* and *Euchlaena*. Univ. Missouri. Res. Bull. 341 : 1-16.
- RANDOLPH, L. G. 1941 — Genetic characters of the B Chromosomes in Maize. Genetics 26 : 608-631.

- REEVES, R. G. and P. C. MANGELSDORF. 1942 — A proposed taxonomic change in the tribe *Maydene*. *Am. Journ. Bot.* 19 : 815-817.
- REEVES R. G. 1944 — Chromosome knobs in relation to the origin of maize. *Genetics* 29 : 141-147.
- SAINT-HILAIRE, A. de 1938 — Lettre sur une variété remarquable de maïs du Bresil. *An. Sc. Nat.* 16 : 143-145.
- TAVCAN, A. 1935 — Beitrag zur Vererbung der Kornreihenzahl an Maiskolben. *Zeitschr. f. Züchtungk.* 20 : 307-442.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS

FIG. 1 — A) Fotografias de três reproduções em barro de milho peruano (Peabody Museu, segundo Mangelsdorf and Reeves, 1939). B) Seis espigas de milho "pigmeo" do lago Titicaca. (Segundo O. F. Cook, Rep. Smithsonian Inst. 1931).

FIG. 2 — A e B) Plantas de milho normal. C e D) Plantas de milho *Tunicata* (Tutu) com flechas hermafroditas.

FIG. 3 — A) Flecha e as duas espigas de plantas normais. B e C) Flexas de plantas Tutu, da mesma família. A direita, a flecha em posição normal e à esquerda sem folhas e abertas. A seta 1 em C indica a posição da espiga lateral, pouco desenvolvida, e as setas 2 em C e 3 em B indicam as espigas terminais, formadas pelo eixo central da inflorescência.

FIG. 4 — A e B) Espigas jovens de *Euchlaena mexicana*. C) Duas espigas jovens de milho.

FIG. 5 — Espigas jovens do híbrido F1 (milho normal x teosinto) em florescimento. A) Uma espiga vista de três lados diferentes. B) Duas espigas em vista frontal. C) As mesmas duas espigas em vista lateral.

FIG. 6 — Espigas maduras do híbrido F1 (milho normal x teosinto). A até D) Seis espigas, vistas de frente, (A e C) e vistas de lado, (B e D). E) Inflorescência completa.

FIG. 7 — Espigas jovens do híbrido F1 (milho tunicata paulista x teosinto) em florescimento. A) Uma espiga vista de dois lados opostos. B) Três espigas, e no lado direito, três pares de espiguetas.

FIG. 8 — Espigas maduras do híbrido F1 (milho tunicata Paulista x teosinto) A) Inflorescência completa. B e C) Espigas quebradiças, os nós isolados e vistos de lado (B) ou de cima (C). D) Espigas inteiras com indicação da separação dos grãos do sabugo (seta).

FIG. 9 — Espigas de várias plantas do primeiro “backcross” do híbrido (milho tunicata paulista x teosinto). A até D) Plantas tunicata Tutu. E e F) Plantas normais tutu.

FIG. 10 — Reconstrução do milho selvagem. A e D) Espiga de frente. B) Espiga vista de lado. C e E) Espiga com grãos maduros e soltos.

FIG. 11 — A e B) Espigas ramificadas de milho boliviano, em A um pouco aberto e em B as partes separadas. C) Espiga ramificada de milho Cateto.

FIG. 12 — A) Galho lateral fêmea ramificado do milho normal. B) Inflorescência lateral do híbrido (milho x teosinto). C até E) Inflorescência de plantas tunicata de F2 (milho x teosinto); o eixo central da flecha indicada como “terminal” em C e E; as inflorescências terminais do galho fêmea indicado com “terminal lateral”, e as espigas de segunda ordem como “lateral”.

FIG. 13 — Parte da inflorescência de *Tripsacum australe*, madura, (A e B) e jovem (C e D). A e C pertencem ao tipo T1, e B e D ao tipo T3.

FIG. 14 — Inflorescência de *Tripsacum australe* T1 (A até C) e T3 (D até E) A e D) Inflorescências terminais de hastes principais. B e E) Inflorescências nos galhos laterais da primeira ordem. C e F) Inflorescências nos galhos laterais de segunda ordem.

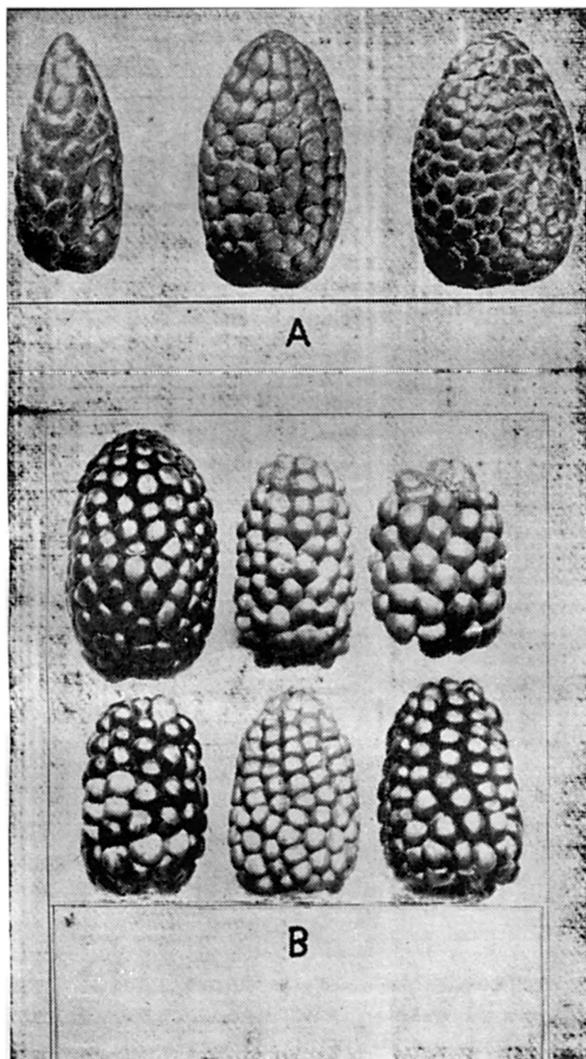


Fig. 1

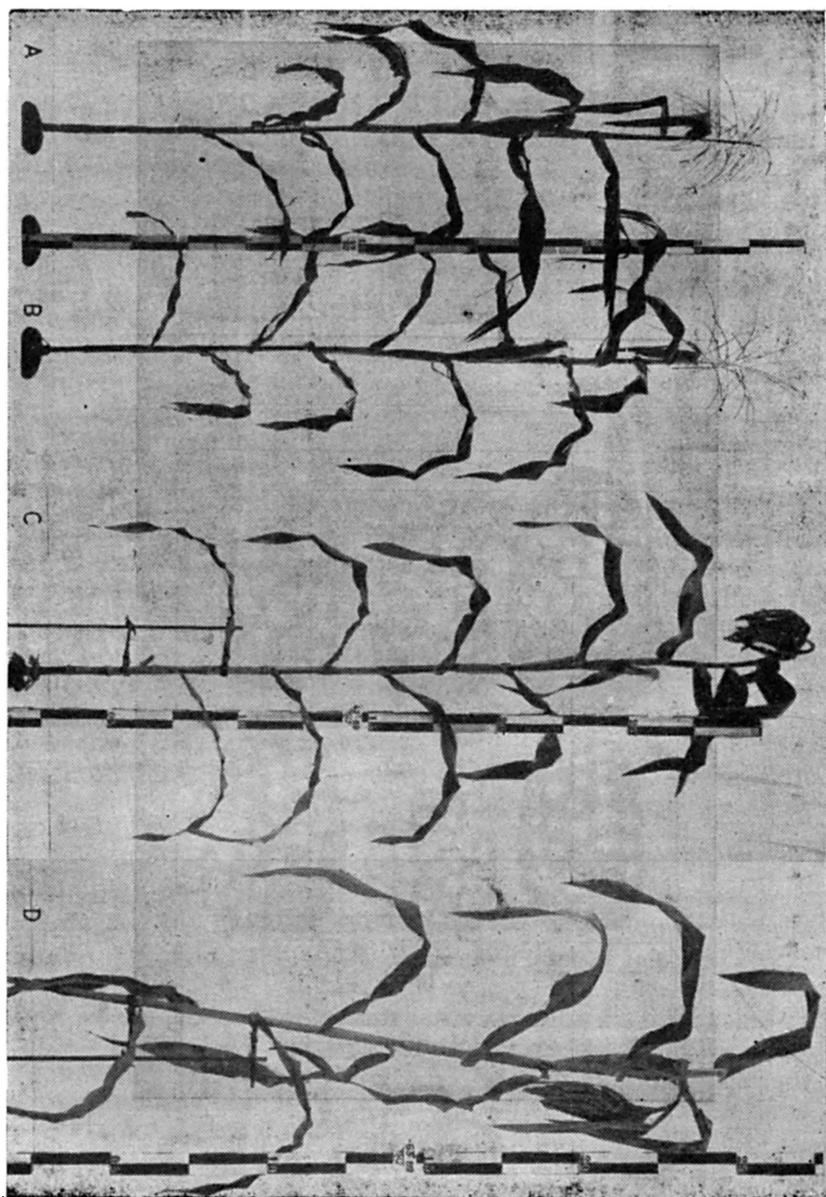


Fig. 2

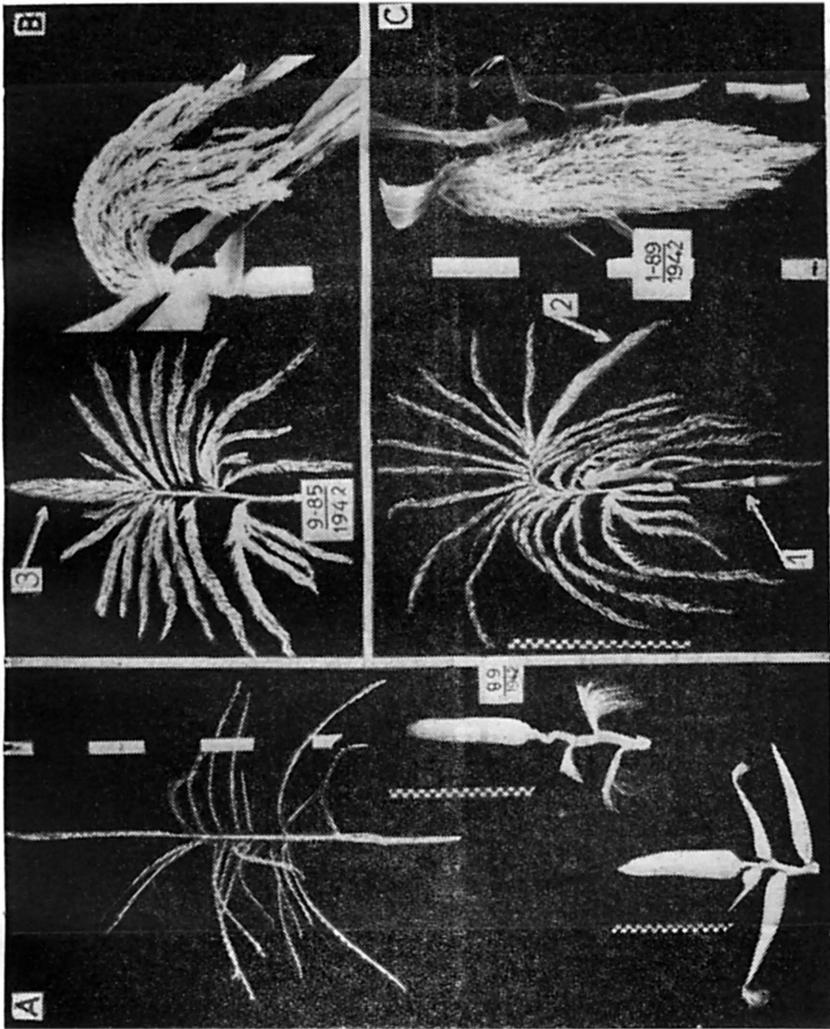


Fig. 3

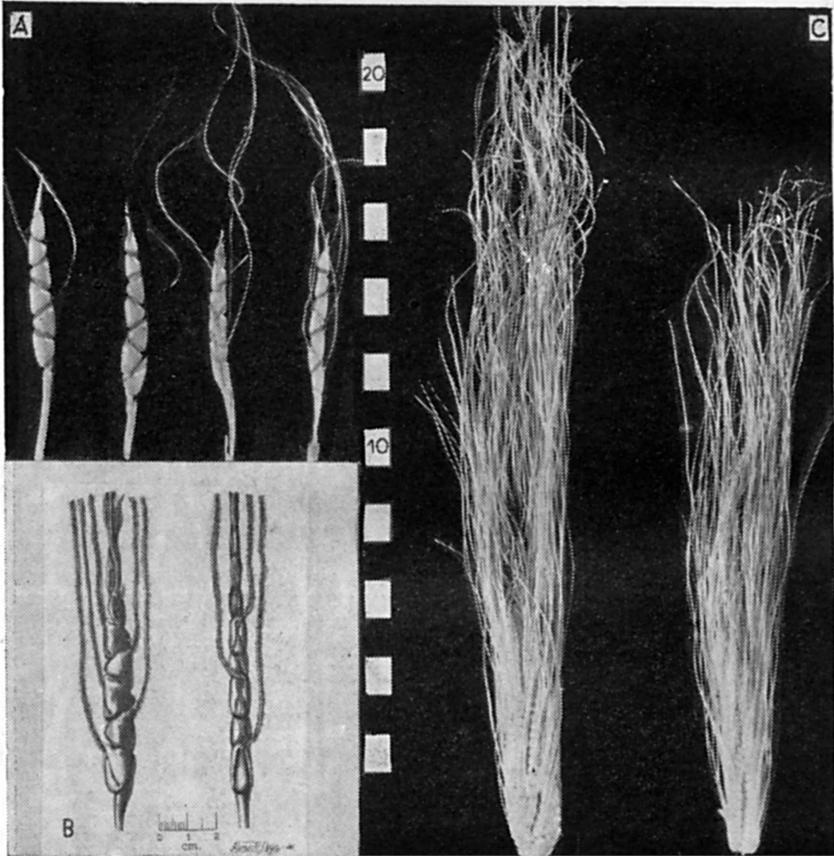


Fig. 4

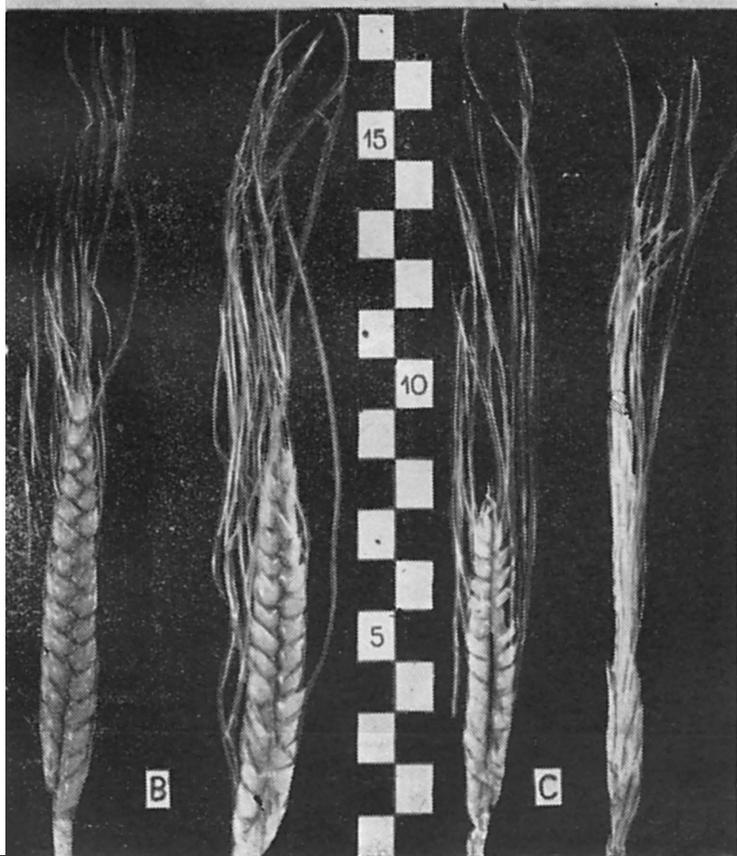
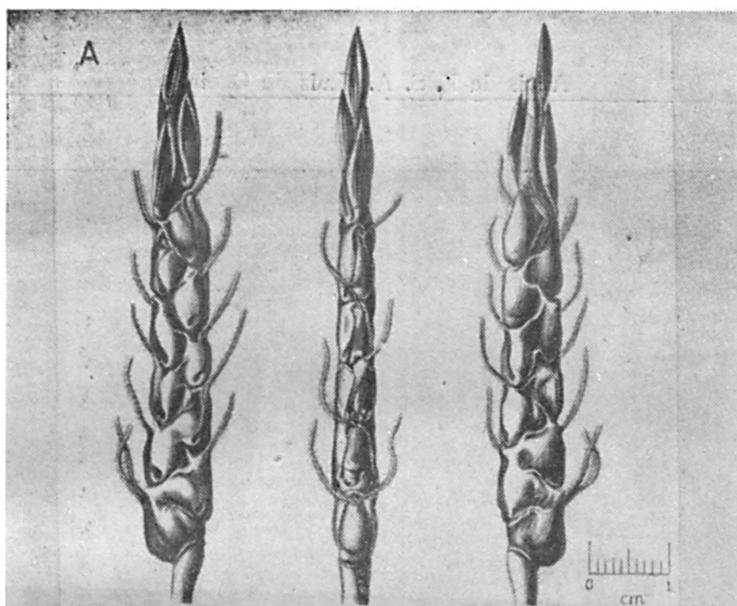


Fig. 5



Fig. 6

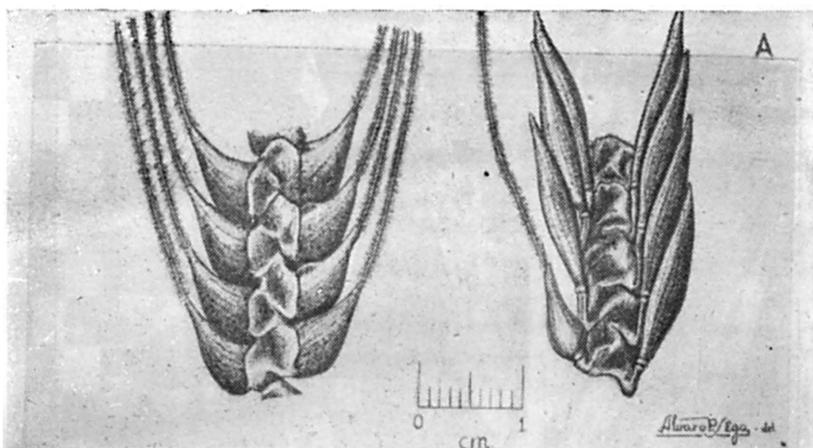


Fig. 7

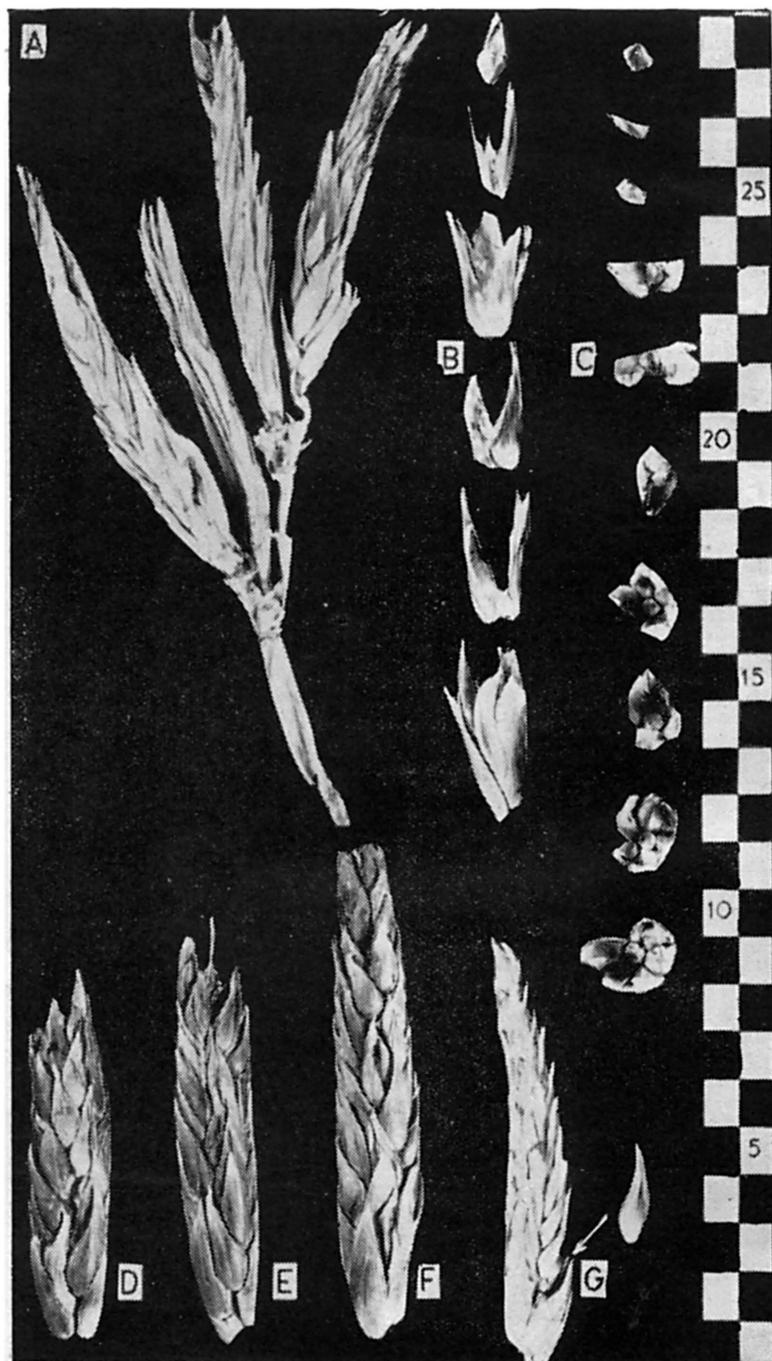


Fig. 8

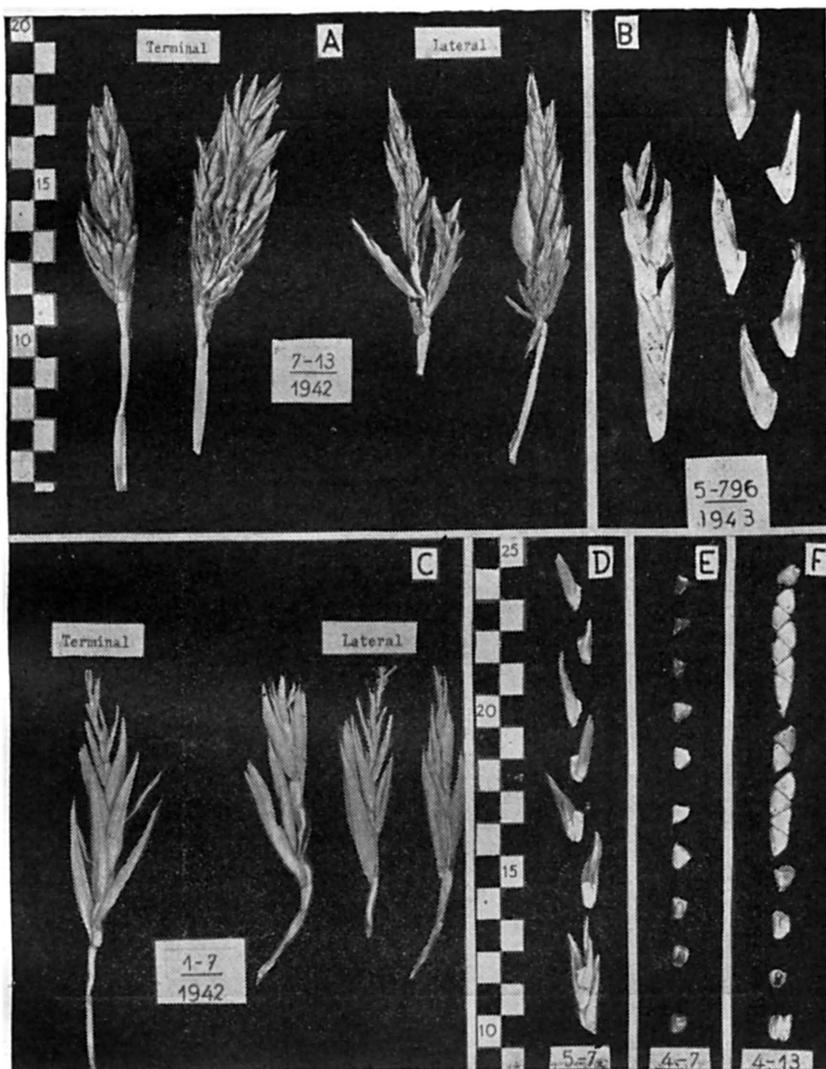


Fig. 9

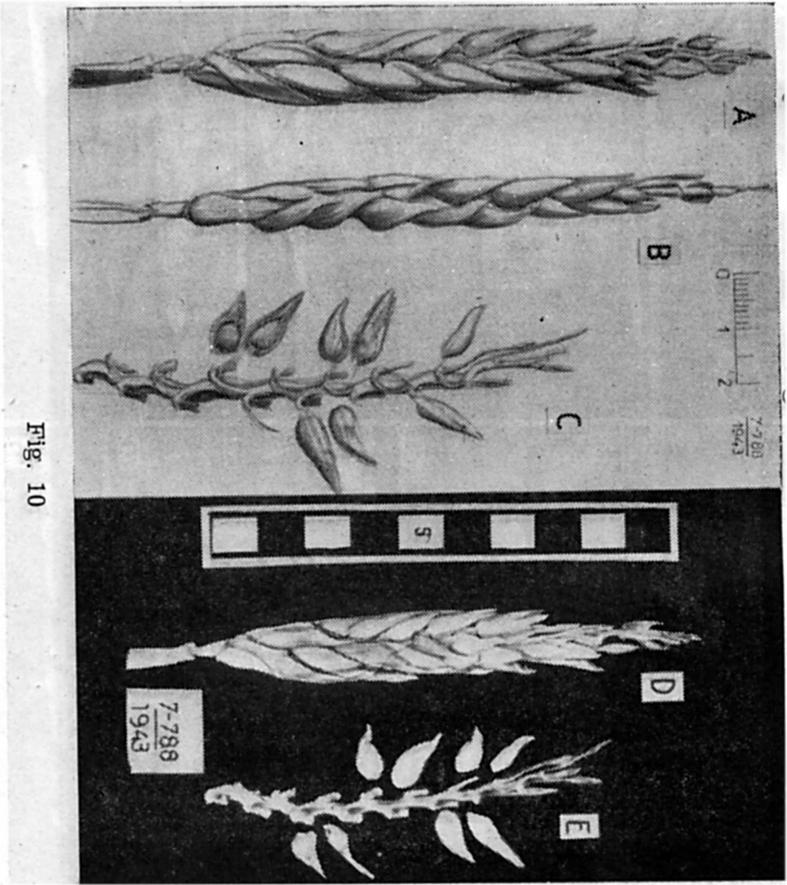


Fig. 10

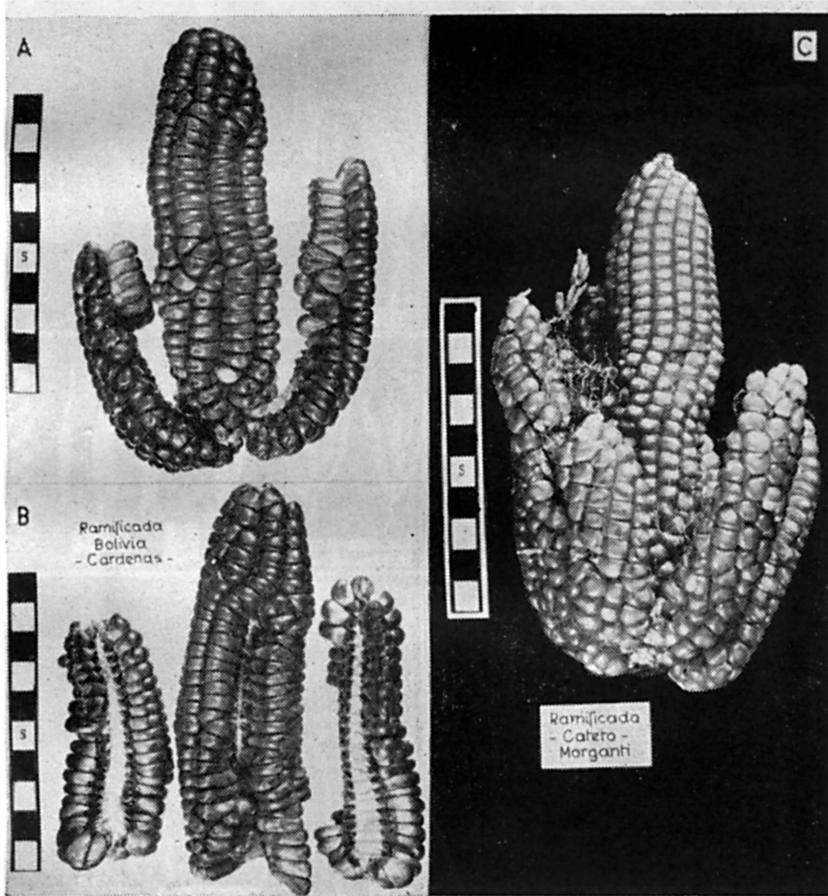


Fig. 11

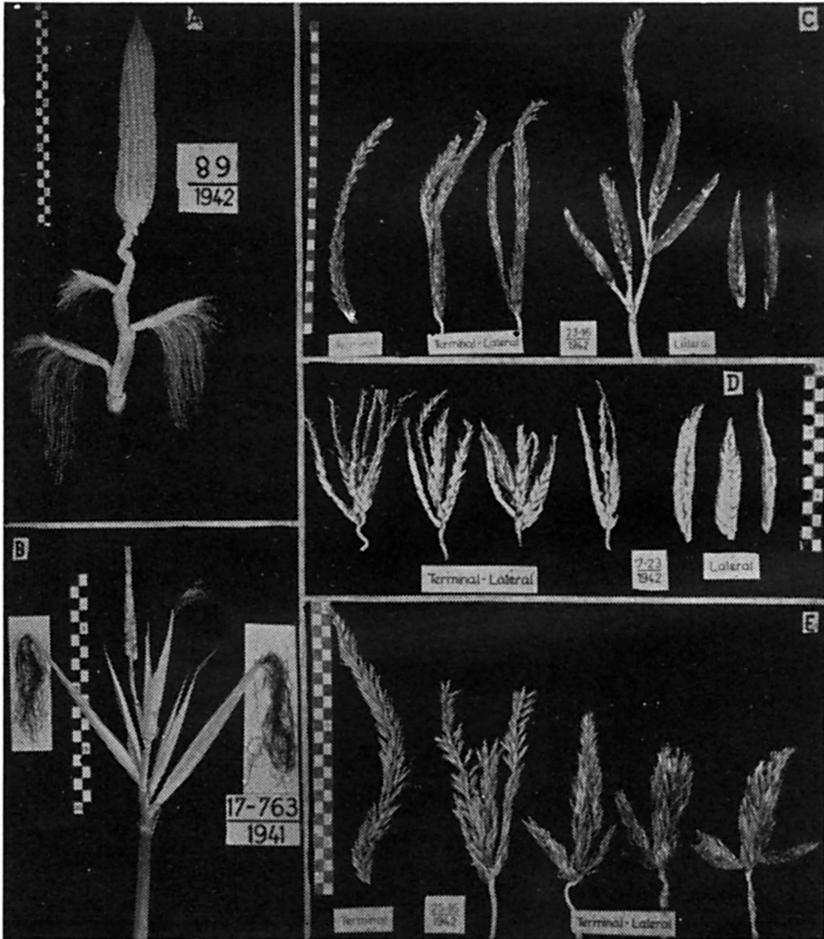


Fig. 12

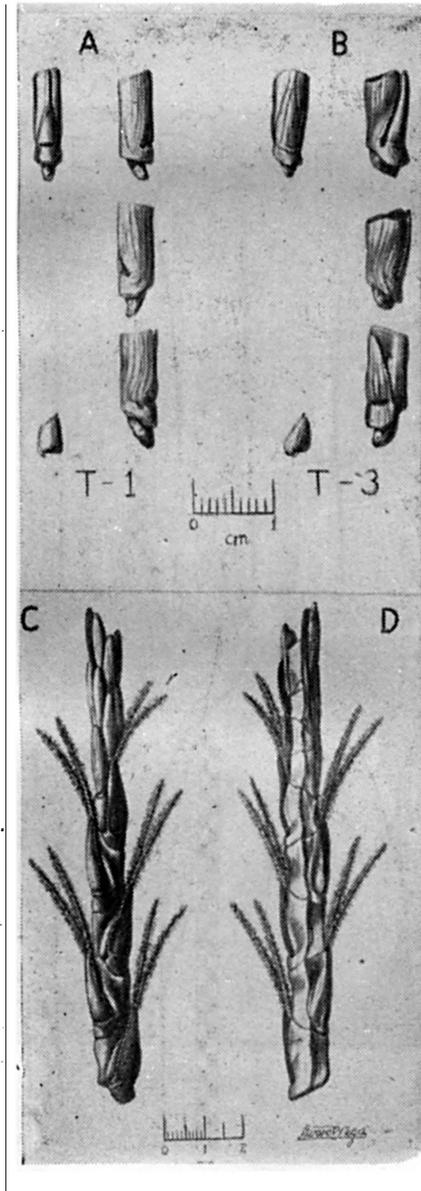


Fig. 13

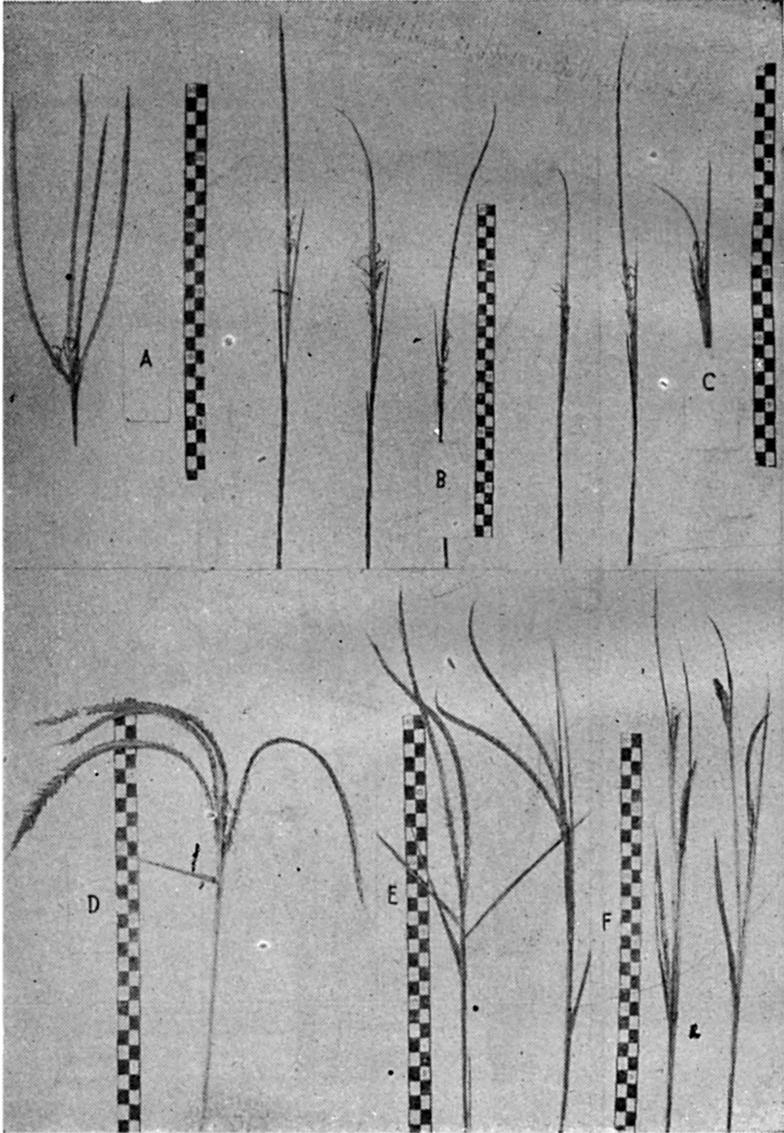


Fig. 14