

GEN Y₇, COMPLEMENTAR DE Y₁ E Y₃ PARA A COLORAÇÃO AMARELO-LARANJA DA SEMENTE DE MILHO *

E. A. Graner

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

1) INTRODUÇÃO

Em trabalho anterior (6), que chamei de nota preliminar, descrevi a interação de um novo fator genético Y₅ na produção de pigmentos amarelo-laranja no endosperma do milho, bem como analisei rapidamente a ação dos diferentes gens que controlam as diversas tonalidades encontradas nas sementes. Muitos cruzamentos foram depois realizados, vários estão sendo conduzidos e outros planejados para se estudar a relação entre esses fatores genéticos e, antes de uma análise mais completa desse material, parece interessante apresentar esta nova contribuição afim de relatar um novo gen, ao qual dei a denominação Y₇.

2) GEN Y₇, NOVO COMPLEMENTAR PARA A COLORAÇÃO DO ENDOSPERMA

O fator genético, cuja interação vai ser analisada neste trabalho, foi obtido como mutação espontânea nos Estados Unidos da América do Norte, em material trabalhado pelo Dr. A. M. Brunson, que gentilmente me enviou sementes afim de que

* Um resumo deste trabalho foi apresentado à 1.a Reunião Conjunta das Sociedades de Biologia do Brasil, realizada em São Paulo no mês de Setembro de 1946.

fossem feitos cruzamentos com os diferentes testes contendo fatores genéticos implicados na coloração amarelo-laranja da semente e com os quais venho trabalhando desde já há algum tempo.

a) Cruzamento (y1y1Y3Y3bnbn) x (Y1Y1Y3Y3Y7-)

Para êste cruzamento empreguei o teste contendo os recessivos y1 e bn, cujas sementes são inteiramente brancas. As plantas desta linhagem foram cruzadas com a plantas da linhagem importada dos Estados Unidos e contendo o recessivo y7, cujas sementes tinham a coloração amarelo-limão. Foram sempre utilizadas como fêmeas as plantas da linhagem teste, devido ao desenvolvimento pouco satisfatório das plantas de sementes introduzidas. O gen y7, que apareceu como mutação espontânea, tem o duplo efeito de condicionar sementes sem a coloração amarelo-laranja e plantinhas albinas, sendo portanto também um fator de ação letal, pois as plantinhas brancas morrem logo após esgotada a reserva contida nas sementes. Tive que utilizar como macho diversas plantas da linhagem recebida e provenientes de sementes coloridas, com a constituição genotípica Y7Y7 ou Y7y7. Várias espigas autotecundadas foram obtidas sendo esperado plantas segregando somente para o gen y1, do cruzamento (y1y1Y3Y3bnbn) x (Y1Y1Y3Y3Y7Y7) e plantas segregando para o fator y1 ou para os fatores y1 e y7, do cruzamento (y1y1Y3Y3bnbn) x Y1Y1Y3Y3Y7y7). De fato, foram encontradas plantas que produziram espigas, segregando 3 colorido : 1 branco. As sementes destas espigas, quando plantadas, produziram sempre plantas verdes normais, indicando assim a segregação para o gen y1. Outras espigas apresentaram razão diferente da 3:1, contendo sementes na proporção de 9 amarelo-laranja : 7 compreendendo sementes brancas e sementes coloridas de amarelo-limão. Algumas destas espigas foram analisadas e outras estão sendo ainda objeto de análise mas os resultados de uma delas estão contidos no quadro N.º 1. As sementes das espigas segregando 9 : 7, quando semeadas, produziram plantas sem-

pre verdes, quando pertenceram ao grupo amarelo-laranja e plantinhas verdes e brancas, quando do grupo de sementes brancas e coloridas de amarelo-limão. As razões encontradas indicam ser o gen Y7 um novo complementar de Y1. Os resultados da análise realizada estão contidos no quadro N.º 2, onde verifica-se que a segregação 9 sementes amarelo-laranja : 7 sementes brancas e sementes coloridas de amarelo-limão, é normal; a segregação das plantinhas verdes e albinas na razão 3 : 1 é também concordante e a segregação de sementes e plantinhas ao mesmo tempo apresenta uma razão 9 : 3 : 4, de acôrdo com o esperado na base de dois fatores genéticos complementares condicionando as sementes coloridas de amarelo-laranja, dos quais um produz ao mesmo tempo efeito sôbre sementes e plantas.

QUADRO N.º 1

Referência	Côr da Semente	Número de sementes	Plantinhas obtidas		Total de plantinhas.
			Verdes	Albinas	
Espiga n.º	Laranja	240	231	5	236
19-11/1946	Amarelo-Limão	101	5	70	75
(autofecundada)	Branca	100	59	25	84
Total		441	295	100	395

Resta agora examinar a segregação da coloração amarelo-limão apresentada pelas espigas estudadas e coloração esta introduzida pela linhagem norte-americana. Verifica-se pelo quadro N.º 1 que quase tôdas as sementes coloridas de amarelo-limão produzem plantinhas albinas, parecendo indicar ligação muito forte entre os gens responsáveis por êsses dois caracteres. A coloração amarelo-limão das sementes de milho é devida à presença de pigmento amarelo sômente na camada de aleurona, devida ao gen Bn, sendo as sementes classificáveis sômente na ausência de outros pigmentos no endosperma.

A segregação do gen **Bn** muitas vezes não é analisável, por ser esta coloração bastante fraca, sendo às vezes difícil a separação entre as sementes brancas e as coloridas, devido à ação de modificadores e da dosagem de gens no endosperma, pontos estes que pretendo discutir mais em detalhe em outra publicação. As sementes amarelo-limão da espiga segregando para este caráter foram examinadas, tendo sido constatado ser essa coloração devida ao pigmento somente na camada de aleurona e provavelmente devida ao gen **Bn** já conhecido e localizado no cromossômio 7. A falta da razão 3 sementes amarelo-limão : 1 sementes brancas, no grupo não colorido de amarelo-

QUADRO N.º 2

Espiga n.º 19-11 1946 (autofecundada)	Sementes (9:7)		Plantinhas (3:1)		Sementes e Plantinhas (9:3:4)		
	Laranja	Amarelo Limão + Branca	Verdes	Albinas	Laranja Verdes	Amarelo-Limão + Branca	
						Verdes	Albinas
Observado	240	201	295	100	231	64	100
Esperado	247,01	193,99	296,25	98,75	220,21	74,07	98,76
χ^2	0,198	0,253	0,005	0,015	0,528	1,368	0,015
χ^2 Total	0,451		0,020				1,911
P	>0,50		>0,80				>0,30

laranja, podia ser devida à dificuldade de classificação mencionada, antes do que a qualquer ligação de gens num mesmo cromossômio (*linkage*). Supondo-se que as sementes onde se constata a cor amarelo-limão são as de constituição **triplex** e **duplex** (**BnBnBn** e **BnBnbn**) a razão esperada no grupo sem coloração amarelo-laranja é de 1/2 de sementes coloridas de amarelo-limão para 1/2 de sementes brancas. Pelos dados reunidos no quadro N.º 1 verifica-se que esta razão é de fato observada e a qual se repete também em várias outras espigas. Pode-se então supor não se tratar de ligação de gens e que o des-

vio da razão 3:1 seja devida à dificuldade de classificação das sementes **simplex (Bnbnbn)**. Neste caso, no grupo de sementes coloridas de amarelo-limão, devemos esperar uma segregação de aproximadamente 1/2 de plantinhas verdes para 1/2 de plantinhas albinas (3 verdes : 4 albinas) e esta razão não é encontrada, as sementes amarelo-limão produzindo, em grande maioria, plantinhas albinas. Da mesma forma, tôdas as plantinhas albinas deveriam ter sua origem em 1/2 de sementes amarelo-limão e 1/2 de sementes brancas e o que **também** não se verifica. O desvio da razão 3:1 parece ser então devido à ligação do gen para a coloração amarelo-limão das sementes e o gen com duplo efeito, falta de pigmento amarelo-laranja no endosperma e falta de clorofila nas plantas. Neste caso e, devido à dificuldade de separação das sementes amarelo-limão das sementes brancas, as sementes classificadas como brancas e produzindo plantinhas albinas, salvo os "crossovers", devem pertencer ao grupo de sementes amarelo-limão. Se o gen para a coloração amarelo-limão em questão for o mesmo gen **Bn** do cromossômio 7, ou um seu alelo, ter-se-á então que o gen **y7** está localizado no mesmo cromossômio. Outros cruzamentos afim de verificar êste ponto estão em andamento.

b) Cruzamento (Y1Y1y3y3Y5Y5 x Y1Y1Y3Y3Y7-)

O teste que entrou neste cruzamento com a linhagem contendo o novo mutante **y7** tinha as sementes amarelas, devido a interação dos gens **Y1** e **Y5** e as plantas albescentes, devido ao gen **y3**. A linhagem norte-americana foi também utilizada, neste cruzamento, como macho e da mesma forma como no cruzamento anterior; devemos esperar da autofecundação das plantas, espigas segregando 3:1 (**Y1Y1Y3y3Y5Y5Y7Y7**) e espigas segregando 9 amarelo-laranja : 7 Resto (**Y1Y1Y3y3Y7y7**). Estas razões foram observadas, as espigas com segregação monofatorial produzindo sempre segregação para plantinhas albescentes. As espigas segregando 9:7 produziram, na classe sementes não amarelo-laranja, sementes coloridas de amarelo e sementes coloridas de amarelo-limão. Os dados de uma dessas espigas estão reunidos nos quadros n.ºs 3 e 4. Pode-se verificar

por êles uma segregação 9:7 nas sementes, indicando assim ser o gen Y7 também complementar de Y3 e o que já se esperava em vista do gen Y3 ser complementar de Y1. Considerando agora as plantinhas, vamos encontrar uma segregação 9:3:4 concordante, devido à ação dos gens y3 (plantas albescentes) e y7 (plantas albinas).

O quadro n.º 3 mostra uma situação semelhante àquela obtida no cruzamento anterior, com relação à segregação do gen para a coloração amarelo-limão e sua ligação para com o novo complementar Y7.

Neste cruzamento deve-se também observar a segregação para o gen Y5, produzindo, na interação com Y1, sementes amarelas. De fato, estas sementes amarelas são encontradas nas espigas auto-fecundadas e deram, quando postas a germinar, sempre plantas albescentes (Quadro N.º 3). Nota-se entretan-

QUADRO N.º 3

Referência	Côr da Semente	Número de sementes	Plantinhas obtidas			Total de plantinhas
			Verdes	Albesc.	Albinas	
Espiga n.º	Laranja	210	192	2	4	198
10-153	Amarela	59	0	51	1	52
1946	Amarelo-limão	75	1	0	69	70
(autofecundada)	Branca	8	0	0	5	5
Total		352	193	53	79	325

to não haver segregação independente para o gen Y5. As sementes amarelas não produzem plantinhas albinas e o grupo sementes brancas e sementes amarelo-limão não se apresenta na razão de 1/4 do grupo de sementes não amarelo-laranja. As sementes amarelo-limão deram sempre plantinhas albinas, não se constatando assim neste grupo segregação para o gen y3 (plantas albescentes), devido à ação inibidora do gen para plantinhas albinas. Considerando as sementes, verifica-se uma segregação 9:3:4 para o gen Y5 em relação às classes amarelo-

laranja, amarelo-limão e brancas, indicando estar o gen Y5 em ligação a um dos fatores de cuja interação resulta a coloração amarelo-laranja. Também a classe sementes brancas é representada por poucos indivíduos, sendo o resultado da troca de partes entre cromossômios (*crossing-over*). Estes resultados podem ser explicados admitindo-se que o gen Y5 está ligado ao gen Y7 e o qual, por sua vez, mostra também estar ligado ao ben Bn, de forma que as plantas que entraram no presente cruzamento, quando as espigas segregaram 9:7, tinham as seguintes constituições genótípicas.

Linhagem teste

Y5Y7 bn

Y1Y1y3y3

Y5Y7 bn

Linhagem norte-americana

Y5Y7 bn

Y1Y1Y3Y3

y5y7 Bn

Os dados até agora obtidos indicam a ligação mencionada, ou seja, os gens Y5, Y7 e Bn no cromossômio 7, mas não permitem ainda uma conclusão definitiva sobre esta ligação, sen-

QUADRO N.º 4

Espiga n.º 10-153 1946 (autofecundada)	Sementes (9:7)		Plantinhas (9:3:4)		
	Laranja	Amarela, Amarelo- Limão e Branca	Verdes	Albescentes	Albinas
Observado	210	142	193	53	79
Esperado	198,00	154,00	182,79	60,93	81,24
χ^2	0,732	0,035	0,569	1,032	0,061
χ^2 total	—	1,667	—	—	1,662
P	—	> 0,10	—	—	> 0,30

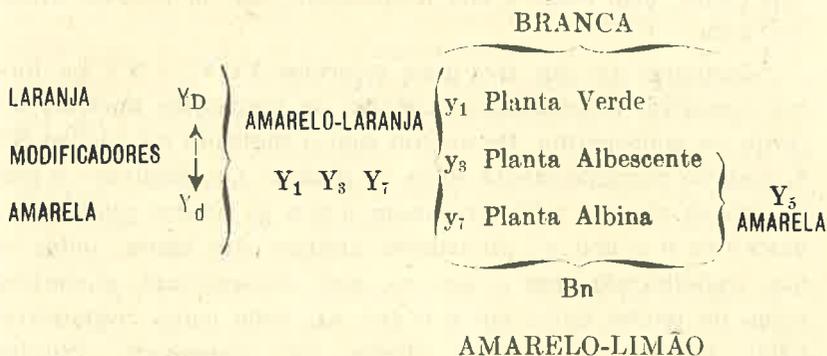
do a ordem dada nos genótipos mencionados apenas para facilidade de exposição, não representando posição verdadeira deles no cromossômio. Testes apropriados para o cromossômio 7 estão sendo planejados, convindo desde já lembrar a dificuldade da análise, não só devido à interação dos diferentes gens, à sua ação cumulativa no endosperma, como também a falta

de gens no cromossômio 7 manifestando-se na semente e nas plantinhas, uma vez que o gen y_7 é letal e que o gen Y_5 só é analisável em genótipo y_3 , o qual produz plantas que crescem com bastante dificuldade e em percentagem muito reduzida. (6).

3) FATORES GENÉTICOS QUE CONDICIONAM A COLORAÇÃO AMARELO-LARANJA DAS SEMENTES

Um apanhado sôbre os diferentes gens até agora conhecidos e sua interação na coloração das sementes de milho será feito a seguir. O quadro N.º 5, incluso, reúne êsses fatores genéticos de maneira a tornar mais fácil esta exposição.

QUADRO N. 5



São conhecidos até agora três gens complementares, cuja interação determina a presença de pigmentos amarelo-laranja no endosperma, e que são :

Y1, localizado no cromossômio 6, com posição conhecida.

Y3, localizado no cromossômio 2 (Estudos sôbre a sua posição no cromossômio 2 estão em andamento e indicam que êle está muito perto do gen $lg1$).

Y7, provavelmente no cromossômio 7.

Na parte esquerda do quadro N.º 5 encontra-se o fator ao qual dei a denominação de YD (D=determinador) e que condiciona na base genética anterior, a diferença entre as colorações laranja (YD) e amarela (Yd). Este gen foi encontrado em material brasileiro e um fator com efeito semelhante, possivelmente no cromossômio 7, parece ter sido recentemente constatado em linhagens norte-americanas. O gen YD é extremamente influenciado por vários fatores modificadores, de modo que a razão monofatorial 3 laranja : 1 amarela é quasi sempre obscurecida, transformando-se a segregação em segregação quantitativa (6). A linhagem norte-americana contendo o gen com efeito semelhante ao gen YD foi cruzada com a linhagem brasileira mas os modificadores não permitiram uma análise da segregação. Cruzamentos de gen YD com testes para o cromossômio 7 também não puderam ser analisados, por causa desses modificadores. Assim, a identificação desses gens como prováveis alelos, bem como a sua localização, não foi possível ainda ser feita.

Qualquer um dos três gens referidos Y1 Y3 e Y7, na forma recessiva, determina a ausência de pigmentos amarelo-laranja no endosperma. De acordo com o indicado no quadro N.º 5, o efeito correspondente sobre as plantas é o seguinte : o gen y1 produz plantas verdes normais, o gen y3 produz plantas albescentes e o gen y7 plantinhas albinas. Até agora, todos os que trabalharam com o gen y3, não conseguiram encontrar troca de partes entre ele e o gen a1, dado como responsável pelas plantas albescentes. Todos os "crossovers" obtidos têm sido devido à heterofertilização ou às dificuldades de classificação das sementes. É bem provável portanto tratar-se ou de ligação absoluta entre y3-a1 ou de um único gen com duplo efeito. Esta última hipótese parece bem razoável em vista da dupla ação do novo complementar y7, com efeito sobre a semente e sobre a plantinha ao mesmo tempo. Assim, na exposição anterior, para maior facilidade, as plantas albescentes são tidas como tendo sido produzidas pelo gen y3. É interessante pensar-se que os dois gens, y3 e y7, impedindo a presença de pigmentos amarelo-laranja na semente, possam impedir

também a formação desses pigmentos na planta, de tal forma que o balanço entre carotinóide-clorofila fique alterado e fazendo com que as plantas tenham um desenvolvimento irregular da clorofila ou mesmo o seu total desaparecimento, como no caso do gen *y7*. É sabido que essa relação carotinóide-clorofila parece ser de importância para o normal desenvolvimento da planta (4). Também é possível que o mesmo gen impedindo a formação de pigmentos na semente condicione ao mesmo tempo qualquer transformação da própria molécula de clorofila, pois uma boa parte desta é fitol, cuja constituição é bastante semelhante àquela do caroteno (4).

Na parte de baixo e do lado direito do quadro N.º 5 encontra-se o gen **Bn**, que condiciona a presença de pigmentos amarelos somente na camada de aleurona, dando às sementes uma coloração semelhante àquela do limão maduro e chamada por isso de amarelo-limão. A ação deste gen é independente daquela produzida pelos gens **Y**. A presença do pigmento condicionado pelo gen **Bn** só é notada quando falta um dos complementares para a coloração do endosperma. A segregação do gen **Bn** também é afetada por modificadores e principalmente pela dosagem no endosperma, não permitindo, em certos genótipos, a distinção entre sementes com dose **simplex (Bnbnbn)** das sementes brancas (**bnbnbn**). A posição do gen **Bn** no cromossômio 7 é bem conhecida (7).

O gen **Y5**, que se encontra no lado direito do quadro N.º 5, tem uma interação com o gen **Y1** na produção da coloração amarela da semente e manifestação esta só possível quando ausente um ou os dois outros complementares **Y3** e **Y7**, para a coloração amarelo-laranja. A única constituição genotípica viável é aquela **Y1y3Y5** que também não é boa, pois as plantas **y3** têm uma viabilidade bastante fraca (6). Este gen está provavelmente no cromossômio 7, a julgar pelos cruzamentos relatados nesta publicação.

4) CLASSIFICAÇÃO DAS CORES E NATUREZA DOS PIGMENTOS ENVOLVIDOS

Uma descrição dos fatores genéticos até agora conhecidos

e relacionados na coloração amarelo-laranja das sementes de milho foi feita no capítulo anterior e é agora interessante qualificar as diferentes tonalidades determinadas pela interação desses diferentes gens. Assim, a interação Y1, Y3 e Y7, produz uma coloração **amarelo-laranja**, variável de acordo com os modificadores que constituem o genótipo da linhagem em aprêço. O gen **YD**, favorecido pelo conjunto de modificadores, produz uma coloração **laranja**, enquanto que o alelo **Yd**, com os modificadores agindo também favoravelmente, produz uma coloração bem amarela, referida por **amarela**. Estas duas tonalidades podem, de acordo com a ação desses modificadores, tornar-se mais ou menos intensas, recebendo então designações como **laranja-forte** e outras. Também a interação do gen **Y5** com o gen **Y1** produz uma coloração que, na maioria das vezes, pouco difere da tonalidade amarela. Faltando um dos complementares para as colorações referidas e estando presente o dominante **Bn**, as sementes tomam uma coloração semelhante àquela do limão maduro e referida por **amarelo-limão**. Para que se possa ter uma idéia mais concreta das tonalidades em contraste, será dada a seguir uma comparação delas para com as cores contidas no Dicionário de Cór, de MAERZ e PAUL (8):

Côr	Tábua	Coluna	Linha
Laranja	10	L	10
Amarelo-laranja	10	L	7
Amarela	10	L	4
Amarelo-limão	10	J	1

Os pigmentos contidos nas sementes dos três primeiros grupos pertencem ao grupo **carotenóides**, parte dos quais é representada pelos β -caroteno e **criptoxantina**, que são ativos em relação à formação da vitamina A no organismo animal. Os pigmentos do grupo **amarelo-limão** parecem não pertencer ao grupo **carotenóides** e assim as sementes com esta coloração não devem possuir a pró-vitamina A. Testes biológicos para a confirmação deste último ponto estão sendo conduzidos.

5) AGRADECIMENTOS

Agradecimentos são devidos ao Dr. A. M. Brunson pelas sementes da linhagem contendo a mutação y7 e ao Dr. Merle T. Jenkins pelas sementes da linhagem norte-americana contendo o gen para a diferença laranja/amarela.

6) ABSTRACT

A new complementary gene producing yellow-orange endosperm in maize, referred as to Y7 and probably in chromosome 7, (Material received from Dr. A. M. Brunson) was described. Its interrelations with Y1 and Y3 was studied and a summary of the different genes controlling the yellow-orange pigment in the seeds is presented.

The shades of yellow-orange endosperm color according to the various genotypes known are compared with the table given in MAERZ and PAUL's Dictionary of Color as follows :

Color	Table	Column	Line
Orange	10	L	10
Yellow-orange	10	L	7
Yellow	10	L	4
Lemon-yellow	10	J	1

7) BIBLIOGRAFIA

- 1 — ANDRÉS, J. M. (1939) — Analisis genetico del color de endosperma em algunos maices comerciales argentinos. Facultad de Agronomia y Veterinaria de Buenos Aires, Tomo I : 1-25.
- 2 — ANDRÉS, J. M. (1944) — Notas sobre genetica del maiz. Facultad de Agronomia y Veterinaria de Buenos Aires. Tomo II : 115-124.
- 3 — BRIEGER, F. G. (1937) — Tábuas e fórmulas para estatística. Cla. de Melhoramentos de S. Paulo.

- 4 — GORTNER, R. A. (1938) — Outlines of Biochemistry. John Wiley & Sons Inc., New York.
- 5 — GRANER, E. A. (1943) — Genética da côr amarelo-laranja nas sementes do milho. Revista de Agricultura 18 : 443-445.
- 6 — GRANER, E. A. (1945) — The yellow-orange endosperm of maize. The American Naturalist 79 : 187-192.
- 7 — KVAKAN, P. (1924) — The inheritance of brown aleuro-ne in maize. Cornell University Agricultural Experiment Station. Memoir 83 : 1-22.
- 8 — MAERZ, A. and M. REA PAUL (1930) — Dictionary of Color. McGraw-Hill Book Company, Inc., New York.
- 9 — PERRY, H. S. and G. F. SPRAGUE (1936) — A second chromosome gene, Y3, producing yellow endosperm in maize. Journal of American Society of Agronomy 28 : 990-995.
- 10 — SPRAGUE, G. F. (1932) — The nature and extent of heterofertilization in maize. Genetics 17 : 358-368.