

SENSIBILIDADE DE GENÓTIPOS DE AVEIA (*Avena sativa* L.) NA PRIMEIRA GERAÇÃO APÓS TRATAMENTO DE SEMENTES COM AGENTES MUTAGÊNICOS

JEFFERSON LUÍS MEIRELLES COIMBRA¹, FERNANDO IRAJÁ FELIX DE CARVALHO², FERNANDO LUÍS CAPRIO DA COSTA³, SIMONE ALVES SILVA⁴, NOELI J. S. VASCONCELLOS⁴, CLAUDIR LONRECETTI⁵, ALTAIR D.R. FAES⁶

RESUMO – Contribuição relevante para o melhoramento genético de aveia é a possibilidade da utilização de mecanismos que incrementem a variabilidade genética. O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar a sensibilidade de genótipos fixos de aveia hexaplóide quanto ao emprego de agentes mutagênicos. Dois mutagênicos químicos, etilmetanossulfonato (EMS) e metilmetanossulfonato (MMS), e um físico (raios gama), em três doses, foram testados para quatro genótipos. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições, sendo a unidade experimental composta por uma caixa gerbox com papel germiteste e 100 sementes. As médias foram comparadas pelo teste de Scheffé. Os dados apontaram decréscimo linear dos caracteres germinação e comprimento da raiz com o aumento da dose do mutagênico. Apenas o efeito linear do mutagênico EMS foi significativo. Dentro do intervalo estudado (0-3%) a germinação diminuiu ($b = -1,03$) com o aumento da dose do EMS. A radiação gama reduziu acentuadamente o comprimento da raiz ($b = -4,72$), comparativamente aos demais agentes mutagênicos.

Palavras-chave: melhoramento genético, mutagênese, efeitos fisiológicos.

OAT GENOTYPES (*Avena sativa* L.) SENSIBILITY IN THE FIRST GENERATION AFTER SEED TREATMENT WITH MUTAGENIC AGENTS

ABSTRACT – Important contribution for oat genetic improvement is the possibility to use mechanisms that increase genetic variability. The objective of this work was to evaluate and compare the sensibility of hexaploid oat fixed genotypes as a response to the employment of mutagenic agents. Two mutagenic chemicals, ethyl methanesulphonate (EMS) and methyl methanesulphonate (MMS), and one physical (gamma rays), in three doses, were tested in four genotypes. The experimental design was a randomized complete block with three replicates for each treatment, where the experimental unit was composed by a gerbox with germitest paper and 100 seeds. Averages were compared by the Scheffé test. Data indicate linear decrease of the characters germination and root length with the increase of the mutagenic dose. Only the linear effect of mutagenic EMS was significant. Within the studied interval (0-3%), germination decreased ($b = -1,03$) with the increase of the EMS doses. Gamma radiation caused significant reduction in root length ($b = -4,72$), as compared to the other mutagenic agents.

Key words: plant breeding, mutagenesis, physiological effects.

INTRODUÇÃO

Alterações na seqüência de bases do ácido desoxirribonucléico (DNA), molécula que contém o código genético dos seres vivos, ocorrem espontaneamente e podem ser intensificadas por agentes químicos e físicos (NÓBREGA, 1998). Portanto, essas alterações na molécula de DNA são a base física da variabilidade genética dos seres vivos, sendo usadas como poderosas ferramentas pelos melhoristas com a intenção de ampliar a variabilidade genética e/ou selecionar genótipos superiores.

O êxito na seleção de plantas, para os autores BRIGGS e KNOWLES (1967), está diretamente relacionado à existência de variabilidade genética, visto que a ausência de dispersão impossibilita o

acionamento de mecanismos evolutivos em qualquer espécie. Essa variabilidade, encontrada nos organismos vivos, é devido à ocorrência de mutações naturais e recombinações gênicas, na qual a seleção natural exerce um papel fundamental na manutenção dos indivíduos melhor adaptados para um determinado ambiente (SIMMONDS, 1981).

A ocorrência de mutações espontâneas na natureza é relativamente de baixa freqüência e de difícil identificação, por serem, na sua maioria, recessivas e deletérias (ALLARD, 1960). Exercer algum controle sobre a ocorrência de mutações, bem como utilizar técnicas que incrementem o número de mutantes, são aspectos que vêm sendo enfatizados cada vez mais pelos pesquisadores.

Em estudo sobre o efeito de mutações induzidas, GREGORY (1967) estabeleceu que os

1. Eng. Agr. – Aluno do Curso de Pós-graduação em Agronomia da UFPel, Pelotas, RS. Jlmcpos@ufpel.tche.br
2. Eng. Agr., Ph.D. – Professor da UFPel. Caixa Postal 354, 96001-970 Capão do Leão, RS. Pesquisador do CNPq.
3. Eng. Agr., M.Sc. – Professor da Faculdade de Agronomia, UFPel, Pelotas, RS.
4. Aluna – Curso de Pós-graduação da UFPel, Pelotas, RS.
5. Aluno – Curso de Agronomia, UFPel, Pelotas, RS. Bolsista de Iniciação Científica do CNPq.
6. Físico-Médico – Supervisor em Rádio-proteção CRO/UFPel, Pelotas, RS.
Recebido para publicação em 26/12/1997.

mutagênicos têm campos diferenciados de atuação. Definiu, como macromutação, as alterações em pequeno número de genes de grande efeito no caráter, determinando modificações na média da população e não interferindo na distribuição dos indivíduos; como micromutações, as modificações em grande número de genes de pequeno efeito sobre o caráter, estabelecendo alteração na variância da população.

A determinação dos efeitos dos agentes mutagênicos sobre as plântulas provenientes de sementes tratadas constitui procedimentos rotineiros em trabalhos desta natureza, pois esses efeitos dependem, entre outros fatores, do genótipo tratado (GAUL, 1977). Em geral, a sensibilidade das sementes tratadas é avaliada pelos efeitos dos agentes mutagênicos sobre a percentagem de germinação, fertilidade das inflorescências, desenvolvimento das plantas, sobrevivência e outras características (CARNEIRO et al., 1987). Comumente, do ponto de vista técnico, os efeitos principais são: atraso no crescimento e redução na sobrevivência, com o incremento das doses utilizadas (ABRAMS e FREY, 1964; GAUL et al., 1972).

Os genótipos destinados à irradiação devem ser os mais adaptados, necessitando apenas de pequenas alterações genéticas em poucos caracteres. Em consequência, são utilizadas constituições genéticas fixas, embora existam indicações de que sementes da geração F_1 recebem algumas vantagens por exporem dois alelos distintos, ao mesmo tempo, à ação do mutagênico (MICKE e DONINI, 1993).

O estreito relacionamento genético entre genótipos de aveia (O'DONOUGHUE et al., 1994) e a dificuldade de efetuar grande número de cruzamentos, especialmente em espécies autógamas (BARBOSA NETO e BERED, 1998), apontam o emprego de agentes mutagênicos como uma alternativa para suprir as atuais dificuldades dos métodos utilizados em melhoramento genético de aveia.

A utilização de diferentes mutagênicos tem despertado grande interesse, visto que implica em aumento da variância genética em espécies como aveia (NASCIMENTO JUNIOR et al., 1990) e triticale (PANDINI et al., 1997). Sendo assim, é necessário determinar a efetividade dos agentes mutagênicos, bem como suas respectivas doses. Neste sentido, o presente trabalho foi executado com o objetivo de avaliar e identificar a melhor relação entre dose e produto, que causa o menor dano fisiológico na geração M_1 em genótipos modernos de aveia do sul do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado no Laboratório de Genética Vegetal/D25/IB da Universidade Fede-

ral de Pelotas, localizado no município de Capão do Leão, Rio Grande do Sul, nos meses de outubro e novembro de 1997, para testar quatro genótipos fixos de aveia hexaplóide, três mutagênicos e três doses para cada mutagênico. Foram aplicados os tratamentos utilizando sementes dos quatro genótipos pré-embebidas em água destilada. Posteriormente, todos os genótipos foram submetidos à dose padrão, constituída pela ausência de aplicação do agente mutagênico nas sementes, a qual serviu de controle para sensibilidade dos genótipos aos mutagênicos e às respectivas doses avaliadas. As sementes permaneceram em água destilada por 10 horas e 30 minutos, antes da aplicação do tratamento. Este tempo de pré-embeimento foi determinado num ensaio preliminar, submetendo-se todos os genótipos ao embeimento durante 24 horas e pesando-se as sementes, de hora em hora, até seu peso se estabilizar, com o intuito de padronizar o conteúdo de água nas mesmas, após ter sido atingido o ponto de saturação. Em seguida, ficaram por duas horas em contato com o agente mutagênico. Logo após a aplicação do mutagênico, permaneceram por uma hora em água corrente e uma hora em água parada. Este procedimento teve como objetivos a eliminação de radicais livres e do produto mutagênico utilizado. Há evidências que, quanto maior o conteúdo de água nas sementes, menor é o teor de oxigênio (radicais livres) que age diretamente na formação de peroxid radicais (H_2O_2), os quais atuam como agentes mutagênicos, podendo causar efeitos fisiológicos tampões, mascarando, assim, o verdadeiro efeito dos agentes mutagênicos testados (NÓBREGA, 1998).

A unidade experimental foi composta por 100 sementes de cada genótipo, semeadas em caixa gerbox medindo 11x11 cm. A caixa gerbox continha dois papéis germinadores, um liso e outro marcado com cem lugares. Em seguida foram postas em câmara de crescimento a 21° C, permanecendo até a germinação da maioria das sementes. Os danos fisiológicos causados pelo agente mutagênico foram medidos através da avaliação do número de sementes germinadas (GER), três dias após a semeadura. Sendo que as plântulas permaneceram em crescimento por um período de dez dias, quando foram realizadas as avaliações das seguintes variáveis: comprimento da plântula (CP), em cm, e comprimento da raiz (CR), em cm, segundo metodologia proposta por BRIGGS e KNOWLES (1977) e GAUL (1977).

Os tratamentos foram constituídos pelos seguintes mutagênicos químicos alquilantes: etilmetanossulfonato (EMS) e metilmetanossulfonato (MMS). O mutagênico físico utilizado foi os raios gama provenientes de Co^{60} , em concentrações distintas, conforme dados incluídos na Tabela 1.

TABELA 1 – Agentes mutagênicos: etilmetanossulfonato (EMS), metilmetanossulfonato (MMS) e raios gama, com suas respectivas concentrações. Fac. de Agronomia Eliseu Maciel/UFPel, 1997

Mutagênicos	Doses		
EMS	0,5%	1,5%	3,0%
MMS	0,25%	0,5%	1,0%
Gama	100 G _y	200 G _y	400 G _y

Foi utilizado, para as irradiações, o aparelho Eldorado-78, fabricado no Canadá pela Theratronics Ltd., do Centro Regional de Oncologia da Faculdade de Medicina (CRO/UFPel), com rendimento de 54,01 C_{Gy}, para um campo de 30x30 cm, e uma distância de 80 cm. Os tratamentos com raios gama foram efetuados na fonte de Cobalto – 60, com 1679 C_y. Sendo irradiadas 100 sementes pré-embebidas, por tratamento. As doses totais absorvidas foram de 100, 200 e 400 G_y por tratamento.

Sementes básicas de quatro genótipos de aveia (UFRGS 10, UFRGS 14, UPF 16 e CTC 3) foram tratadas com produtos mutagênicos. Além do alto rendimento de grãos, estas cultivares revelam bons caracteres agrônômicos, como média a alta estatura, ciclo precoce a intermediário, boa qualidade de grãos, com elevado peso de hectolítrico, e uma boa relação grão/palha, quando comparadas às cultivares tradicionalmente plantadas no Sul do Brasil (CARVALHO, 1998).

Os dados da análise de variância univariada foram analisados no delineamento experimental inteiramente casualizado, com três repetições para cada tratamento, e os graus de liberdade foram particionados num esquema fatorial com as seguintes causas de variação: genótipos (G), mutagênicos (M), GxM, dose (D), GxD, MxD, GxMxD, repetições e erro médio. Como o número de repetições para cada tratamento é diferente, foi utilizado o cálculo da soma de quadrados para dados não balanceados através do procedimento GLM, o qual utiliza o método dos quadrados mínimos para ajustar um modelo linear (SAS Institute, 1985). Para análise de regressão foi utilizado o procedimento REG, este procedimento ajusta modelos de regressão linear estimados através dos quadrados mínimos (SAS Institute, 1985).

Para os testes de hipóteses sobre os efeitos do modelo foi usado o erro médio; para comparação das médias dos tratamentos com a testemunha foi empregado o teste de Scheffé a 5% de probabilidade. Para efeito de análise estatística, os dados da variável germinação foram transformados em $\sqrt{x+1}$, com o objetivo de diminuir a heterogeneidade da variância e assimetria da distribuição dos dados (STEEL e TORRIE 1980). As

análise foram realizadas, separadamente para cada caráter, usando o programa computacional SAS (SAS Institute, 1985).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de variância, incluídos na Tabela 2, demonstram que houve diferença estatística para o caráter germinação entre os efeitos dos mutagênicos (M) e genótipo (G) e para as interações entre G*M e M*D. Esse fato revela a dependência do genótipo, tanto na presença do agente mutagênico, quanto da dose.

Os dados referentes ao caráter comprimento da raiz, também descritos na Tabela 2, apontam diferença estatística para as causas de variação: genótipo, mutagênico, dose, e para as interações G*M e M*D, indicando as dependências do genótipo com o tipo de agente mutagênico empregado no tratamento de sementes e do agente mutagênico com a dose, respectivamente. Os valores do teste de F mostram variações altamente significativas (P<0,01) apenas para as interações simples G*M e M*D, enquanto que a interação tríplice não foi significativa. Este fato revela uma dependência entre os efeitos dos fatores genótipo com mutagênico e mutagênico com dose. O emprego da diferença entre os efeitos isolados, para o caráter comprimento da plântula avaliado, evidenciou que os efeitos de genótipo, mutagênico e dose foram altamente significativos.

Os coeficientes de variação oscilaram entre 24 e 74%, aproximadamente, conferindo uma precisão esperada às estimativas deste ensaio. Para GAUL (1977), métodos que determinam os efeitos dos agentes mutagênicos no tratamento de sementes são técnicas que interferem na germinação. Sendo assim, o coeficiente de variação geralmente é alto. FREUND e LITTELL (1981) comentam que o coeficiente de variação é uma razão de medida da variação relativa do desvio padrão residual para a média da variável dependente. Para BRIGGS e KNOWLES (1967) ensaios dessa natureza alcançam 50 a 70% de mortalidade entre as sementes e/ou plântulas. Tal fato, inflaciona o desvio padrão residual e proporcionalmente o coeficiente de variação para experimentos com esse objetivo.

A interação G*M foi significativa para os caracteres germinação (P<0,01) e comprimento da raiz (P<0,05), respectivamente. Sendo assim, este resultado demanda a descrição qualitativa da interação simples (Tabela 3), pois as conclusões que poderiam ser tiradas da análise de variância univariada (Tabela 2), para os fatores genótipo, mutagênico e dose, sobre as variáveis germinação e comprimento da raiz, ficam prejudicadas. Por-

tanto, a análise de variação atribuível ao fator mutagênico, separadamente, para cada um dos níveis do fator genótipo, e vice-versa para os caracteres germinação e comprimento da raiz, é apresentada na Tabela 3.

Os resultados dos caracteres germinação e comprimento da raiz revelam que a variação entre os três agentes mutagênicos testados é significativa ($P < 0,01$) em todos os genótipos avaliados. Do mesmo modo, a variação entre os mutagênicos, dentro dos genótipos avaliados, foi significativa

($P < 0,01$) em todos os agentes mutagênicos, exceto no mutagênico dois (MMS) para o caráter germinação. Por outro lado, a variação entre genótipos, para o caráter comprimento da raiz, foi significativa apenas no mutagênico um (EMS). Para os caracteres germinação e comprimento da raiz, a variação entre os mutagênicos, para os genótipos, e a variação entre os genótipos, para os mutagênicos, podem ser analisados criteriosamente mediante os contrastes de interesse no experimento e que são apresentados na

TABELA 2 - Resumo da análise de variância, indicando graus de liberdade (GL), coeficiente de variação (CV), em porcentagem, e quadros médios (QM) dos caracteres germinação (GER), comprimento da raiz (CR) e comprimento da plântula (CP), em quatro genótipos fixos de aveia submetidos a diferentes agentes mutagênicos em diferentes doses. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPEL, 1997

Fator de Variação	G E R		C R		C P	
	GL	QM	GL	QM	GL	QM
Genótipos (G)	3	32,66**	3	19,40**	3	72,50**
Mutagênicos (M)	3	92,59**	3	319,12**	3	490,75**
G x M	9	13,74**	9	9,93*	9	13,38
Dose (D)	2	1,32	2	83,97**	2	153,62**
G x D	6	0,49	6	4,18	6	5,59
M x D	4	2,64**	4	17,43**	4	4,96
G x M x D	12	0,68	12	4,64	12	6,85
Erro	78	0,43	78	4,66	78	6,93
CV (%)	24,04		73,37		62,46	

* e ** significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente pelo teste de F

TABELA 3 - Análise da variação dos caracteres germinação (GER) e comprimento da raiz (CR), com a decomposição da variação atribuível a mutagênicos, para cada nível de genótipo, e decomposição da variação atribuível a genótipos, para cada nível de mutagênico, em quatro genótipos fixos de aveia hexaplóide. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPEL, 1997

Germinação						Comprimento da raiz					
FV	GL	QM	FV	GL	QM	FV	GL	QM	FV	GL	QM
MIG ₁	3	4,2*	GIM ₀	3	32,4*	MIG ₁	3	76,9*	GIM ₀	3	0,9
MIG ₂	3	71,6*	GIM ₁	3	4,1*	MIG ₂	3	80,8*	GIM ₁	3	41,3*
MIG ₃	3	50,5*	GIM ₂	3	0,1	MIG ₃	3	129,4*	GIM ₂	3	1,7
MIG ₄	3	7,5*	GIM ₃	3	37,4*	MIG ₄	3	61,8*	GIM ₃	3	5,3
Erro	78	0,4	erro	78	0,4	Erro	78	4,7	erro	78	4,7

* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste de F.

M₀: controle; M₁: EMS; M₂: MMS; M₃: raios gama (Co⁶⁰).

G₁: UFRGS 10; G₂: UFRGS 14; G₃: UPF 16; G₄: CTC 3.

TABELA 4 - Análise da variação do caráter germinação (GER) para os testes de significância dos contrastes de efeitos atribuíveis a genótipos, para cada nível de mutagênico, e a mutagênico, para cada nível de genótipo, em quatro genótipos fixos de aveia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPEL, 1997

FV ¹	GL	QM	FV ²	GL	QM
C ₁ : MIG ₁	1	0,023	C ₁ : GIM ₀	1	29,178**
C ₁ : MIG ₂	1	100,101**	C ₁ : GIM ₁	1	6,725**
C ₁ : MIG ₃	1	0,293	C ₁ : GIM ₂	1	0,006
C ₁ : MIG ₄	1	3,180**	C ₁ : GIM ₃	1	45,864**
C ₂ : MIG ₁	1	0,315	C ₂ : GIM ₀	1	43,470**
C ₂ : MIG ₂	1	8,107**	C ₂ : GIM ₁	1	0,828
C ₂ : MIG ₃	1	14,851**	C ₂ : GIM ₂	1	0,009
C ₂ : MIG ₄	1	2,333*	C ₂ : GIM ₃	1	2,501**
C ₃ : MIG ₁	1	12,308**	C ₃ : GIM ₀	1	24,664**
C ₃ : MIG ₂	1	106,513**	C ₃ : GIM ₁	1	4,670**
C ₃ : MIG ₃	1	136,358**	C ₃ : GIM ₂	1	0,003
C ₃ : MIG ₄	1	17,024**	C ₃ : GIM ₃	1	63,700**
Erro	78	0,433	Erro	78	0,433

* e ** significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste de F.

¹ C₁: controle vs. demais; C₂: EMS vs. MMS; C₃: C₃: EMS, MMS vs. RAIOS GAMA.

² C₁: CTC3 vs. demais; C₂: UFRGS10 vs. UFRGS 14; C₃: UFRGS10, UFRGS 14 vs. UPF16.

Tabela 4.

O efeito da aplicação dos agentes mutagênicos, para a variação entre os genótipos (Tabela 4), foi significativa ($P < 0,01$) em todos os três contrastes estabelecidos para os genótipos dois e três (UFRGS 10 e UPF 16). Por outro lado, o efeito do mutagênico EMS foi significativo ($P < 0,01$) em todos os genótipos avaliados, exceto no genótipo um (CTC3). O efeito da aplicação dos mutagênicos químicos (EMS e MMS) foi significativo ($P < 0,01$) nos genótipos testados. As médias dos quatro genótipos avaliados, para o caráter germinação de sementes, foram, respectivamente, 1,66 (CTC3), 3,73 (UFRGS 10), 3,53 (UFRGS 14) e 2,03 (UPF 16). Para GAUL (1977), a determinação dos efeitos dos agentes mutagênicos sobre as plântulas

provenientes de sementes tratadas, dependem da constituição genética de cada genótipo tratado. Esta afirmativa é corroborada pelos resultados inseridos na Tabela 4.

O efeito dos agentes mutagênicos químicos EMS e MMS, para o caráter germinação, foi significativamente ($P < 0,01$) superior ao produto mutagênico físico (raios gama) nos quatro genótipos avaliados. NÓBREGA (1998) comenta que a lesão mais frequentemente causada pelos radicais livres começa com a oxidação da guanina presente na molécula de trifosfato de desoxirriboguanosina (dGTP). Tal fato evidencia que, provavelmente, os mutagênicos químicos (EMS e MMS) têm profundos efeitos na oxidação da base nitrogenada, como, por exemplo, a

TABELA 5 - Análise da variação do caráter comprimento da raiz (CR) aos testes de significância dos contrastes de efeitos atribuíveis a genótipos, em cada nível de mutagênico, e a mutagênico, em cada nível de genótipo, em quatro genótipos fixos de aveia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPEL, 1997

FV ¹	GL	QM	FV ²	GL	QM
C ₁ : MIG ₁	1	213,33**	C ₁ : GIM ₀	1	0,81
C ₁ : MIG ₂	1	120,40**	C ₁ : GIM ₁	1	101,50**
C ₁ : MIG ₃	1	132,86**	C ₁ : GIM ₂	1	0,67
C ₁ : MIG ₄	1	94,11**	C ₁ : GIM ₃	1	7,84
C ₂ : MIG ₁	1	14,05	C ₂ : GIM ₀	1	1,22
C ₂ : MIG ₂	1	115,52**	C ₂ : GIM ₁	1	18,61*
C ₂ : MIG ₃	1	197,34**	C ₂ : GIM ₂	1	1,03
C ₂ : MIG ₄	1	83,21**	C ₂ : GIM ₃	1	3,04
C ₃ : MIG ₁	1	3,38	C ₃ : GIM ₀	1	0,85
C ₃ : MIG ₂	1	6,41	C ₃ : GIM ₁	1	3,68
C ₃ : MIG ₃	1	58,07**	C ₃ : GIM ₂	1	3,48
C ₃ : MIG ₄	1	8,09	C ₃ : GIM ₃	1	4,86
Erro	78	4,66	erro	78	4,66

* e ** significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste de F

¹ C₁: controle vs. demais; C₂: EMS vs. MMS; C₃: C₃: EMS, MMS vs. RAIOS GAMA.

² C₁: CTC3 vs. demais; C₂: UFRGS10 vs. UFRGS 14; C₃: UFRGS10, UFRGS 14 vs. UPF16.

guanina.

A variação atribuível a genótipo, em cada nível de mutagênico, para os três contrastes de interesse no experimento, é apresentada na Tabela 4. A comparação do genótipo CTC 3 foi significativamente superior aos demais genótipos avaliados neste ensaio nos mutagênicos padrão ($P < 0,01$), EMS ($P < 0,01$) e raios gama ($P < 0,01$). Por outro lado, a comparação do genótipo CTC 3 não foi significativa pelo teste de F no mutagênico dois (MMS). Do mesmo modo, não houve diferença estatística na variação atribuível a genótipo no mutagênico metilado (MMS). Esse resultado pode ter ocorrido, provavelmente, pelo alto efeito tóxico deste produto mutagênico associado a doses elevadas. Uma baixa frequência de alterações na sequência de bases é normal e bem-vinda do ponto de vista evolutivo (NÓBREGA, 1998).

A análise da variação, para o caráter comprimento da raiz no teste de significância dos contrastes de efeito atribuível a mutagênico em cada nível de genótipo, e efeito atribuível a genótipo, em cada nível de mutagênico, é apresentada na Tabela 5. O efeito do tratamento padrão foi significativamente ($P < 0,01$) diferente dos efeitos dos demais tratamentos pelo teste de F para todos os quatro genótipos avaliados. O efeito atribuível ao mutagênico etilado (EMS) foi significativamente ($P < 0,01$) diferente, pelo teste de F, do mutagênico metilado (MMS), nos genótipos UFRGS10, UFRGS14 e UPF16. Esses dois mutagênicos não diferiram significativamente ($P > 0,05$) para o genótipo CTC3. A aplicação dos agentes mutagênicos químicos foi significativamente diferente do mutagênico físico gama pelo teste de F, apenas para o genótipo CTC 3.

A análise da variação do caráter comprimento da raiz, no teste de significância dos contrastes de efeitos atribuível a genótipo, em cada nível de mutagênico, é apresentada na Tabela 5. A comparação do genótipo CTC 3 foi significativamente diferente dos demais, apenas para o mutagênico EMS. Os contrastes estabelecidos não diferiram significativamente ($P > 0,05$) para o mutagênico padrão, MMS e raios gama. Do mesmo modo, a comparação dos genótipos UFRGS 10 versus UFRGS 14, apontou diferença estatística apenas para o

mutagênico EMS. Esses dois genótipos, quando submetidos aos produtos mutagênicos padrão, MMS e raios gama, não diferiram significativamente pelo teste de F ($P > 0,05$). Novamente, esse fato evidencia que a sensibilidade à aplicação do agente mutagênico pode estar relacionada com a constituição genética e ao tipo de mutagênico empregado (metilado ou etilado).

Muito frequentemente, o fator de tratamento quantitativo é o mais importante. Nesse caso, as inferências de maior interesse referem-se à forma da curva de resposta ao fator quantitativo. Portanto, a interação M*D foi significativa ($P < 0,01$) para os caracteres germinação e comprimento da raiz. Esse resultado (Tabela 2) evidencia a necessidade de ajustar curvas distintas para os diferentes níveis do fator qualitativo. Nessa circunstância, a análise deve prosseguir para o estudo da variação atribuível ao fator quantitativo, ou seja, dose dos agentes mutagênicos, separadamente, em cada um dos níveis do fator mutagênico, através de uma decomposição alternativa dos graus de liberdade.

A análise de variação do caráter germinação (Tabela 6), revela elevada significância da variação entre dose de mutagênicos, apenas para o agente mutagênico um (EMS). A análise de variação, para o caráter comprimento da raiz, evidencia elevada significância na variação entre dose de mutagênico para todos os agentes mutagênicos avaliados. Esses testes de significância, apresentados na Tabela 6, revelam elevada significância da variação entre dose para os três mutagênicos testados. Sendo assim, a análise estatística deve prosseguir, para a análise da variação entre doses de mutagênicos, separadamente para cada mutagênico (Tabela 7).

Esses resultados, para os caracteres germinação e comprimento da raiz (Tabela 7), indicam que as variações significativas atribuíveis à dose de mutagênicos, para o agente mutagênico SEM, é eminentemente linear, enquanto que os dois componentes polinomiais linear e quadrático não se mostraram significativos para os agentes mutagênicos MMS e raios gama provenientes de Co^{60} . Esses resultados são coerentes com aqueles obtidos nos testes de significância inseridos na Ta-

TABELA 6 – Análise da variação dos caracteres germinação (GER) e comprimento da raiz com a decomposição da variação atribuível a dose, para cada agente mutagênico avaliado, em quatro genótipos fixos de aveia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPel, 1997

Germinação			Comprimento da raiz		
FV	GL	QM	FV	GL	QM
DIM ₁	2	6,125**	DIM ₁	2	97,187**
DIM ₂	2	0,019	DIM ₂	2	7,254**
DIM ₃	2	0,457	DIM ₃	2	14,377**
Erro	78	0,433	Erro	78	6,933

** significativo a 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste de F.

TABELA 7 – Análise da variação para os testes de significância dos componentes linear e quadrático da variação atribuível à dose do agente mutagênico, para cada mutagênico, em quatro genótipos fixos de aveia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPel, 1997

Germinação			Comprimento da raiz		
FV	GL	QM	FV	GL	QM
dose linearM ₁	1	12,12*	Dose linearM ₁	1	194,37*
dose quadrM ₁	1	0,05	Dose quadrM ₁	1	0,01
dose linearM ₂	1	0,03	Dose linearM ₂	1	11,90*
dose quadrM ₂	1	0,01	Dose quadrM ₂	1	2,61
dose linearM ₃	1	0,84	Dose linearM ₃	1	21,66*
dose quadrM ₃	1	0,07	Dose quadrM ₃	1	7,09
Erro	78	0,43	Erro	78	6,93

* significativo a 1%, pelo teste de F

M₁: EMS; M₂: MMS; M₃: raios gama (Co⁶⁰).

bela 6.

Ainda na Tabela 7, são apresentados os resultados para o caráter comprimento da raiz. Esses resultados apontam que as variações significativas, atribuíveis à dose de mutagênicos para os agentes mutagênicos EMS, MMS e raios gama, são ambas eminentemente lineares, enquanto que o componente polinomial quadrático não se mostrou significativo para nenhum produto mutagênico avaliado. As equações ajustadas dos segmentos de linha reta, para exprimirem a relação entre germinação e dose, e comprimento da raiz e dose, para os agentes mutagênicos EMS, MMS e raios gama, são apresentados nas figuras 1A, 1B e 1C 1D, 1E e 1F, respectivamente.

Apenas o efeito linear do mutagênico EMS foi significativo (Tabela 7), indicando que, dentro do intervalo estudado (0 a 3%), a germinação diminui linearmente com aumento da dose do agente mutagênico. O efeito dos agentes mutagênicos sobre o caráter comprimento da raiz foi significativamente linear ($P < 0,01$), indicando que dentro do intervalo avaliado, para cada mutagênico, o caráter comprimento da raiz diminui linearmente com o aumento da dose dos produtos mutagênicos (Tabela 7). No entanto, para o caráter comprimento da plântula (Figura 2), o mutagênico físico (raios gama) revela uma tendência quadrática, com o comprimento da plântula decrescendo até certo ponto.

A análise da variância do caráter comprimento da plântula (Tabela 2) revela que os efeitos isolados de mutagênico, dose e genótipo apresentaram variações altamente significativas. A magnitude dos quadrados médios evidencia que as diferenças entre as doses foram maiores. Como as interações não foram significativas ($P > 0,05$), evidenciam não existir uma dependência entre os efeitos dos fatores de tratamento avaliados.

Os resultados de comparação de médias (Tabela 8) do caráter comprimento da plântula (cm), para os efeitos de genótipos e mutagênicos, evidenciaram diferença estatística pelo teste de Scheffé a 5% de probabilidade. Analisando a Tabela 8, pode ser notado que o efeito do genótipo UPF 16 revelou um comprimento de plântula significativamente ($P < 0,05$) superior aos demais genótipos avaliados. Por outro lado, os genótipos UFRGS 10, UFRGS 14 e CTC 3 não evidenciaram diferenças significativas pelo teste de Scheffé a 5% de probabilidade.

A comparação dos efeitos dos produtos mutagênicos sobre o comprimento da plântula revelou que todos os agentes mutagênicos testados foram significativamente ($P < 0,05$) diferentes do padrão, pelo teste de Scheffé (Tabela 8). Sendo que os agentes mutagênicos MMS e raios gama não diferiram entre si ($P > 0,05$). Por outro lado, o agente mutagênico EMS reduziu em, aproximadamente, 54% o comprimento da plântula, quando

comparado com o mutagênico padrão. Já o agente mutagênico MMS evidencia uma redução drástica de 91% em relação ao mutagênico padrão. Tal fato indica que produtos metilados, como por exemplo MMS, mostram um efeito tóxico mais drástico, em relação aos mutagênicos etilado (EMS) e físico (raios gama), sugerindo que a dose empregada no agente mutagênico MMS neste trabalho, provavelmente, pode ser reduzida.

Os autores, BRIGGS e KNOWLES (1967), ressaltam a preferência por doses que atinjam 50 a 70% de mortalidade entre as sementes e/ou plântulas, indicando estas como ideais para incrementar a frequência de mutações com reduzidos efeitos fisiológicos, e modificações genéticas profundas e desejáveis. Com base nes-

tes resultados e na conceituação emitida por estes autores há evidências de que qualquer dose testada provocou mudanças fisiológicas significativas sobre germinação, comprimento da raiz, comprimento da plântula. Contudo, os efeitos nas constituições genéticas dos diferentes genótipos só poderão ser avaliados em gerações avançadas. Para os autores BOROJEVIC e BOROJEVIC (1972), o tratamento de sementes com produtos mutagênicos demonstra uma correlação positiva entre a geração M_1 com os caracteres comprimento da raiz, comprimento da plântula e com germinação de sementes. Portanto, uma determinação quantitativa dos efeitos fisiológicos na geração M_1 deverá ser um processo rotineiro em experimentos com o intui-

TABELA 8 – Média de quatro genótipos de aveia e de quatro mutagênicos, referentes ao caráter comprimento da plântula (CP), em quatro genótipos fixos de aveia hexaplóide, pelo teste de Scheffé. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/UFPel, 1997

Genótipos	Médias	Mutagênicos	Médias
UPF 16	6,18 ¹ a ²	controle	12,35 a ¹
UFRGS 14	4,20 b	EMS	6,56 b
UFRGS 10	4,11 b	raios gama	2,20 c
CTC 3	2,37 b	MMS	1,17 c

¹ médias transformadas $(x+1)^{1/2}$

² médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scheffé, a 0,05 de probabilidade.

to de intensificar a frequência de mutações (SWAMINATHAN 1977).

Observando a Figura 2, verifica-se que o comportamento do caráter comprimento da plântula, para os mutagênicos químicos, aponta um efeito linear, indicando que, dentro do intervalo estudado, o caráter comprimento da plântula diminui linearmente com as doses dos agentes mutagênicos químicos (Figura 2). A percentagem de germinação, comprimento da raiz e comprimento da plântula foram altamente influenciados pelas doses crescentes de mutagênicos (Figuras 1 e 2).

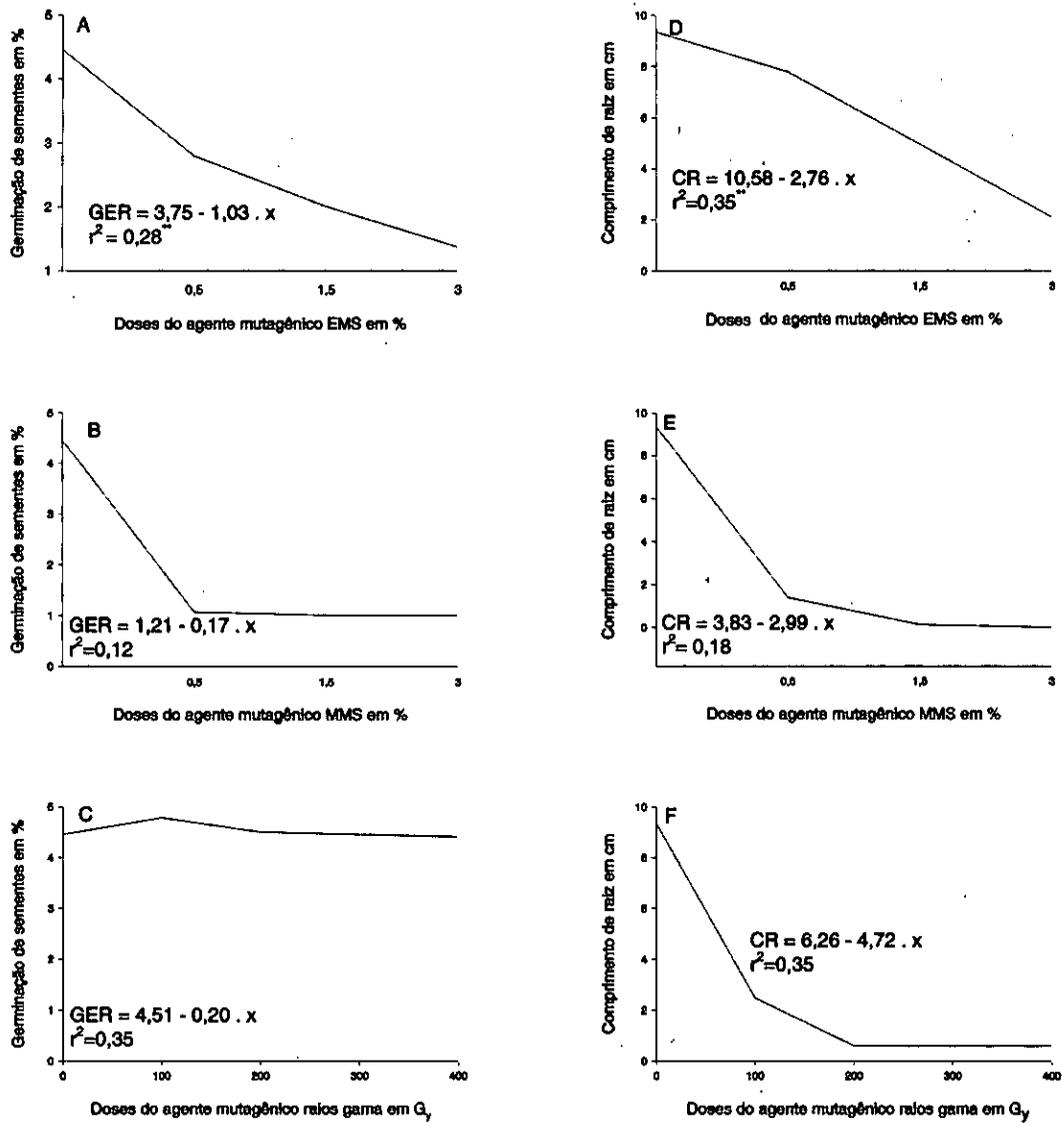
O aumento das doses, principalmente dos mutagênicos químicos testados, provoca efeitos fisiológicos lineares. Conseqüentemente, os objetivos de verificar a existência de modificações ou efeitos fisiológicos em genótipos de aveia foram atingidos. Por outro lado, na comparação entre mutagênicos e seus efeitos fisiológicos nos caracteres germinação, comprimento da raiz e comprimento da plântula evidenciam que o agente alquilante (MMS) provoca toxicidade superior nas doses testadas, em relação a todos os caracteres avaliados (Figura 1).

Autores, como SANTOS et al. (1972), observaram que doses superiores a 60 Gy de radiação

gama prejudicaram sensivelmente a germinação de sementes de feijão e que 480 Gy levaram a letalidade total, demonstrando a importância de ajustar a dose. Além disso, as doses estão diretamente relacionadas com o agente mutagênico empregado no tratamento de tecidos vegetais. SCOSSIROLI (1977) e NÓBREGA (1998) afirmam que frequências de mutações muito altas são indesejáveis, pois o excesso de mutações deletérias traz, ao organismo afetado, desvantagem na competição pela sobrevivência e perpetuação da espécie.

Os gráficos, descritos nas Figuras 1 e 2, revelam a toxicidade inerente a cada agente mutagênico utilizado no experimento. Para todos os caracteres avaliados: germinação, comprimento da raiz e comprimento da plântula, o tratamento padrão foi superior à média e também aos demais tratamentos avaliados. Por outro lado, o mutagênico químico alquilante (MMS), para todos os caracteres avaliados, excetuando o caráter comprimento da plântula, sempre provocou maior toxicidade, reduzindo os valores de cada caráter estudado. Podemos afirmar, assim, que para este mutagênico a dose mais elevada aumenta consideravelmente os efeitos fisiológicos quantificados pelos caracteres germina-

SENSIBILIDADE DE GENÓTIPOS DE AVEIA (*Avena sativa* L.) NA PRIMEIRA GERAÇÃO APÓS TRATAMENTO DE SEMENTES COM AGENTES MUTAGÊNICOS



*indicam que houve diferença significativa pelo teste de t, a 5% de probabilidade, entre os coeficientes de correlação (R^2)

FIGURA 1 – Regressões ajustadas para dois caracteres avaliados: comprimento da raiz e germinação das sementes, em quatro genótipos fixos de aveia submetidos a diferentes doses de mutagênicos químicos e físicos. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, RS, 1997

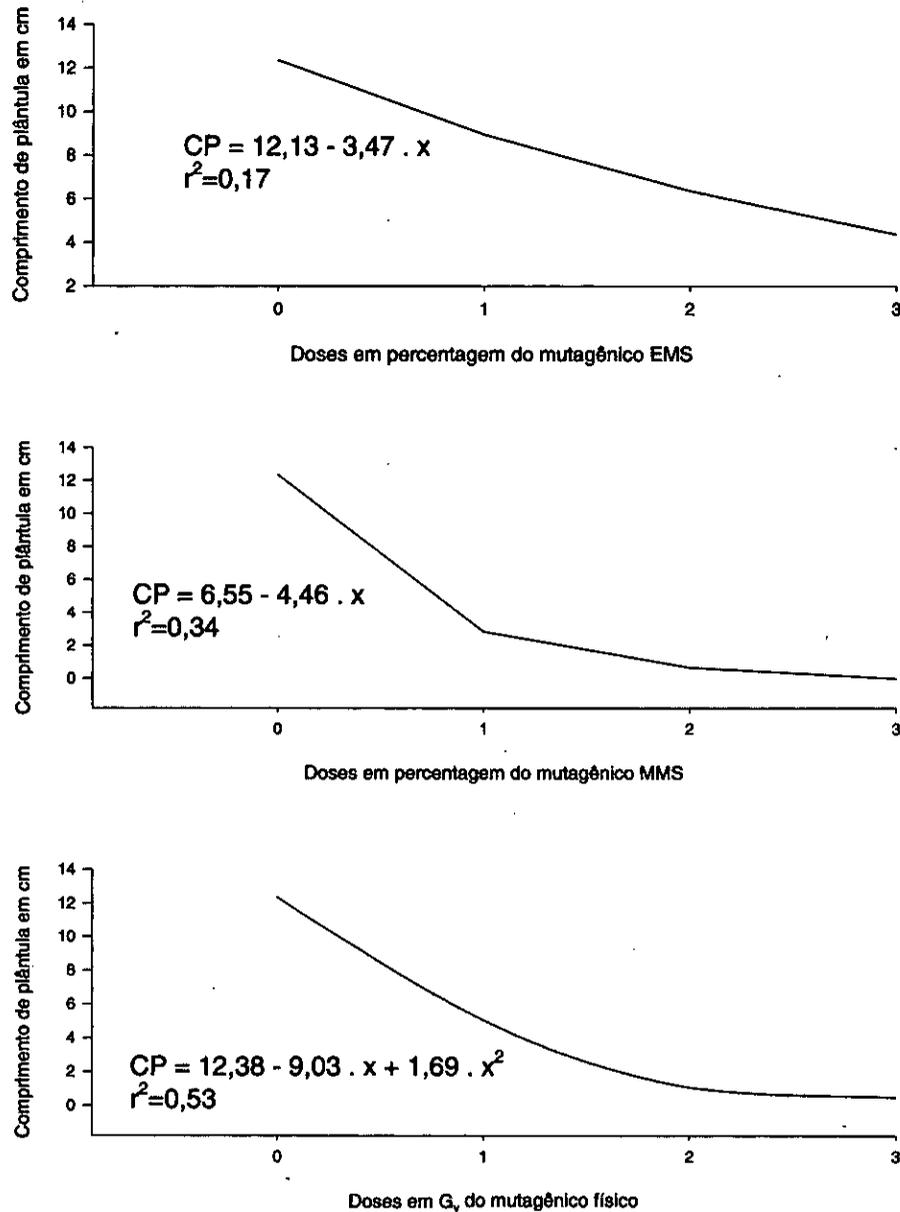


FIGURA 2 - Regressões ajustadas para o caráter comprimento da plântula, avaliado em quatro genótipos fixos de aveia, submetidos a diferentes doses dos mutagênicos EMS, MMS e radiação gama. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, RS, 1997

ção, comprimento de raiz e comprimento da plântula.

A determinação dos efeitos dos agentes mutagênicos sobre as plantas provenientes de sementes tratadas constitui procedimento rotineiro em trabalhos desta natureza, pois esses efeitos dependem, entre outros fatores, do genótipo da cultivar tratada (TULMANN NETO e ANDO, 1994).

Os dados (Figuras 1 e 2) pertinentes ao comportamento dos genótipos avaliados apontam redução em todos os caracteres avaliados, com o aumento da dose dos agentes mutagênicos. Resultados similares foram obtidos pelos autores TULMANN NETO e ANDO

(1994) em feijão, PANDINI et al. (1997) em triticales e NASCIMENTO JÚNIOR et al. (1994) em aveia.

CONCLUSÕES

Todos os agentes mutagênicos, tanto os químicos alquilantes, quanto o físico, provocaram alterações fisiológicas em plântulas provenientes de sementes tratadas com o aumento da dose. A constituição genética das plantas de aveia revelam sensibilidade diferenciada, quando submetidas ao tratamento com mutagênicos químicos e físicos, pos-

sibilitando a escolha da dose que melhor expressa variações nos efeitos fisiológicos.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- ABRAMS, R.; FREY, K. Variation in quantitative characters of oats (*Avena sativa* L.) after various mutagens treatments. *Crop Science*, Madison, v.4, n.1, p.163-67, 1964.
- ALLARD, R.W. *Principles of breeding plant*. New York: J. Willey, 1960. 381p.
- BARBOSA NETO, J.F.; BERED, F. Marcadores moleculares e diversidade genética no melhoramento de plantas. In: *Marcadores moleculares em plantas*. Porto Alegre, 1998. p.29-41.
- BOROJEVIC, K.; BOROJEVIC, S. Mutation breeding in wheat. In: *Induced mutation and plant improvement*. 1970, Buenos Aires. Proceedings. Vienna: IAEA, 1972. p.237-251.
- BRIGGS, F.N.; KNOWLES, P.F. *Introducion to plant breeding*. New York: Renhald Publishing, 1967. 426p.
- CARNEIRO, J.E.S.; BARBOSA, H.M.; VIEIRA, C. et al. Alterações nos caracteres de plantas M₁ de *Phaseolus vulgaris* derivadas de sementes tratadas com etilmetanossulfonato. *Revista Ceres*, Viçosa, v.34, n.193, p.313-320, 1987.
- CARVALHO, F.I.F. Aveia na agricultura moderna. *Seed News*, v.5, n.5, 16p., 1998.
- FREUND, R. J.; LITTELL, R. C. *SAS for linear models: a guide to the ANOVA and GLM procedures*. Cary, NC: Sas institute Inc., 1981. 229 p.
- GAUL, H. Mutagen effects in the first generation after seed treatment: plant injury and lethality. In: IAEA. *Manual on mutation breeding*. 2. ed. Vienna: IAEA, 1977. p.87-91. (Technical Reports, Series 119)
- GAUL, H; FRIMMEL, G.; GICHNER, T; VLONSKA, E. Efficiency of mutagenesis. In: *Induced mutation and plant improvement*. Proceedings, Buenos Aires, 1970. Vienna: IAEA, 1972. p.121-139.
- GREGORY, W.C. Mutation breeding. In: Frey, K.J. *Plant breeding*. 2. ed. Ames: Iowa State University, 1967. p.189-217.
- MICKE, A., DONINI, B. Induced mutations. In: *Plant Breeding: principles and prospects*. Chapman & Hall: London, 1993. Cap.4. p.152-162.
- NASCIMENTO JUNIOR, A.; CARVALHO, F.I.F; BARBOSA NETO, J.F., et al. Agentes mutagênicos e a intensidade de variabilidade genética em caracteres adaptativos na cultura da aveia. (*Avena sativa* L.). *Agronomia Sulriograndense*, Porto Alegre, v.26, n.2, p.199-216, 1990.
- NÓBREGA, F.G. O perigo das mutações no RNA. *Ciência Hoje*, Ribeirão Preto, v.24, n.142, p.22-23, 1998.
- O'DONOUGHUE, L.S.; KIANIAN, S.F.; RAYAPATI, P.J. et al. A molecular linkage map of cultivated oat. *Genome*, v.38, p.368-380, 1995.
- PANDINI, F.; CARVALHO, F.I.F; BARBOSA NETO, J.F. Uso de mutações induzidas e cruzamentos recíprocos no incremento da variabilidade genética para o caráter ciclo vegetativo em triticale. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.27, n.2, p.201-206, 1997.
- SANTOS, F.D.P.; MARCOS FILHO, J.; CAMPOS, H. Efeitos de radiação na germinação de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) variedade Goiano Precoce. *Ciência e Cultura*, São Paulo, v.24, p.409, 1972. (Suplemento)
- SAS User's Guide: statistics, 5. ed. Cary, NC: SAS Institute Inc., 1985. 965 pp.
- SCOSSIROLI, R.E. Mutations in characters with continuous variation. In: IAEA, *Manual on mutation breeding*. 2. ed. Vienna: IAEA, 1977. p.118-123 (Technical Reports, 119)
- SIMMONDS, N.W. *Principles of crop improvement*. London: Longman, 1981. 408p.
- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. *Principles and procedures of statistics*. 2. ed. New York: McGraw-Hill, 1980. 633p.
- SWAMINATHAN, M.S. The detection of induced mutations. In: IAEA, *Manual on Mutation Breeding*. 2. ed. Vienna: IAEA, 1977. p.38-141. (Technical Reports 119)
- TULMANN NETO, A.; SABINO, J.C. Indução e uso de mutante de hábito determinado e precoce em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, v.17, n.4, p.425-30, 1994.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Centro Regional de Oncologia da Faculdade de Medicina (CRO/UFPel) e aos Departamento de Zoologia e Genética e Departamento de Fitotecnia da UFPel, pelas facilidades proporcionadas para realização deste trabalho.