EFICIÊNCIA MUTAGÊNICA DE RADIAÇÃO GAMA E AZIDA SÓDICA EM SEMENTES DE ARROZ (*Oryza sativa* L.)

RICARDO MONTALVÁN DEL AGUILA
Engenheiro Agrônomo

Orientador: AKIHIKO ANDO

Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", da
Universidade de São Paulo, para a
obtenção do título de Doutor em
Agronomia, Área de concentração:
Genética e Melhoramento de Plantas.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Novembro - 1994

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS "LUIZ DE QUEIROZ"/USP

Montalván Del Aguila, Ricardo

M763e Eficiência mutagênica de radiação gama e azida sódica em sementes de
arroz (*Oryza sativa* L.). Piracicaba, 1994.
150. ilus.

Tese - ESALQ
Bibliografia.

1. Arroz de sequeiro - Melhoramento 2. Arroz de sequeiro - Semente -
Mutação induzida 3. Radiação gama em semente de arroz de sequeiro I. Escola
Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba

CDD 633.18

**EFICIÊNCIA MUTAGÊNICA DE RADIAÇÃO GAMA E AZIDA
SÓDICA EM SEMENTES DE ARROZ (*Oryza sativa* L.)**

RICARDO MONTALVÁN DEL AGUILA

Aprovado em : 17/02/95

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Akihiko Ando
Prof. Dr. Gerhard Bandel
Dr. Augusto Tulmann Neto
Dr. Carlos Eduardo Camargo
Dr. Takazi Ishiy

ESALQ/USP
ESALQ/USP
CENA/USP
IAC
EPAGRI

Prof. Dr. Akihiko Ando

Orientador

A meus pais, Hortensia e José Enrique (*in memoriam*)

A minha esposa Maria Alicia

A meus filhos e irmãos

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Este trabalho é o resultado do esforço, dedicação e colaboração de muitas pessoas e instituições. A todos eles meu infinito agradecimento.

Ao Dr. Akihiko Ando, pelos seus ensinamentos, sua excelente direção na execução deste trabalho e na sua redação, assim como por sua singular atitude de ajuda e disposição amiga e compreensiva.

Ao Dr. Roland Vencovsky pela sua excelente disposição nas consultas na área de Estatística.

Ao Dr. Moacyr Camponez do Brasil Sobrinho do Departamento de Solos, pela leitura desta tese e valiosas melhoras no idioma.

Ao CNPq pela bolsa concedida, sem a qual não seria possível a realização deste trabalho.

Ao Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP), que permitiu ao autor realizar o Mestrado, caminho do Doutorado.

Aos docentes do Departamento de Genética, pelos ensinamentos e atenções para minha pessoa, em especial aos seguintes Doutores, em ordem alfabética: Carlos Labate, Ciro Paulino da Costa, Gerhard Bandel, Giancarlo Conde Xavier de Oliveira, José Branco de Miranda Filho, Natal Antônio Vello, Paulo Soderó Martins e Vicente José Maria Sabino.

Aos colegas de estudo e amigos Juan Carlos Montaña Velasco, Sergio Corrales Blandón e Raymundo Nuño Velasco, pela sua ajuda inestimável em muitos sentidos.

Aos colegas, Nelson Fonseca, Luis Antônio dos Santos, Jorge Laínez, Daniel Furtado, Janay A. Santos, Mônica Soubihe, Luciano Nass, Oriel de Lemos, Renato Alas, Roberto Franco Rodriguez, Deonisio Destro, Eduardo Lins e Silva Pires, e Braz Eduardo Pacova, pelos múltiplos serviços prestados.

Aos funcionários do Departamento de Genética, com ênfase especial para Carmen Piloto, Vanderléia de Oliveira, Terezinha Barrete, Silvana Gregório, Elisabeth Silva, Domingos Amaral, Fernando Leopoldino, Antônio de Padua Gorga ("Oberdan"), e Norberto Stabelin, por inúmeros favores.

Aos funcionários de outros departamentos, em especial a Solange C. de Couto Souza do Serviço Social, Nilce Nass e Katia de Andrade Ferraz da Divisão de Biblioteca e Documentação, pelos serviços prestados com tanta disposição.

A meu filho Óliver pela ajuda prestada em tudo que foi possível nos seus 15 anos.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	xii
RESUMO	xvii
SUMMARY	xix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Mutação induzida e melhoramento de plantas.	4
2.2 Eficiência mutagênica.....	10
2.2.1. Propriedades dos mutagênicos quími- cos e fatores modificadores.....	12
2.2.2. Propriedades dos mutagênicos físicos e fatores modificadores.....	14
2.2.3. Propriedades dos sistemas biológicos.	15
2.2.4. Fatores fisiológicos.....	17
2.3 Eficiência de mutagênicos físicos, químicos e em combinação.....	18
2.3.1. Eficiência das radiações ionizantes	18
2.3.2. Eficiência de mutagênicos químicos...	21
2.3.3. Eficiência da combinação de mutagêni- cos.....	21
2.4 Indução de mutações em caracteres quantita- tivos.....	26
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1. Material.....	29
3.2. Métodos.....	29
3.2.1. Tratamentos com radiação-gama.....	30
3.2.2. Tratamentos com azida sódica.....	30
3.2.3. Tratamento associado de radiação-gama e azida sódica.....	31
3.2.4 Obtenção de dados experimentais.....	32
3.2.5 Análise estatística.....	37
3.2.5.1. Teste de Z.....	37

3.2.5.2. Teste de χ^2	37
3.2.5.3. Avaliação de variabilidade fenotípica induzida nas plantas da geração M_2	38
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.1 Avaliações dos danos	40
4.1.1. Altura de plântula.....	43
4.1.2. Sobrevivência aos 14 dias	45
4.1.3. Letalidade de plantas M_1 à maturidade	45
4.1.4 Fertilidade de panículas M_1	48
4.2 Avaliações do fator de mutações.....	53
4.2.1 Mutações ao nível de panículas M_1 (Msp)	53
4.2.2 Mutações ao nível de plântulas M_2 (Msd)	54
4.2.3 Mutantes ao nível de plântulas M_2 (Mtsd)	56
4.3. Avaliação da eficiência mutagênica	59
4.3.1. Msp/I e Msp(1-I/100).....	59
4.3.2. Msp/ L_1 e Msp(1- L_1 /100).....	63
4.3.3. Msp/ L_2 e Msp(1- L_2 /100).....	65
4.3.4. Msp/S e Msp(1-S/100).....	68
4.3.5. Msd/I e Msd(1-I/100).....	71
4.3.6. Msd/ L_1 e Msd(1- L_1 /100).....	73
4.3.7. Msd/ L_2 e Msd(1- L_2 /100).....	75
4.3.8. Msd/S e Msd(1-S/100).....	78
4.3.9. Mtsd/I e Mtsd(1-I/100).....	80
4.3.10. Mtsd/ L_1 e Mtsd(1- L_1 /100).....	83
4.3.11. Mtsd/ L_2 e Mtsd(1- L_2 /100).....	85
4.3.12. Mtsd/S e Mtsd(1-S/100).....	87
4.4. Análise de espectro de mutações de clorofila	92
4.5. Efeito de combinação de tratamentos com raios-gama e azida sódica.....	100
4.5.1. Efeito sobre os danos	101

4.5.1.1	Efeito sobre a redução de altura de plântulas (I).....	101
4.5.1.2	Efeito sobre a letalidade aos 14 dias (L ₁).....	103
4.5.1.3	Efeito sobre a letalidade à maturidade (L ₂).....	104
4.5.1.4	Efeito sobre a redução da fertilidade (S).....	105
4.5.2	Efeito sobre o fator de mutações	107
4.5.2.1	Efeito sobre Msp.....	107
4.5.2.2	Efeito sobre Msd.....	109
4.5.2.3	Efeito sobre Mtsd.....	109
4.5.3	Efeito sobre a eficiência mutagênica	112
4.5.3.1.	Efeito sobre Msp/Dano.....	112
4.5.3.2.	Efeito sobre Msd/Dano.....	115
4.5.3.3.	Efeito sobre Mtsd/Dano.....	118
4.6	Efeito dos tratamentos mutagênicos sobre a média e a variância de alguns caracteres agronômicos em plantas da geração M ₂	121
4.6.1.	Efeito sobre média dos caracteres analisados.....	123
4.6.2.	Efeito sobre a variância dos caracteres avaliados.....	125
5.	CONCLUSÕES.....	129
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	131
	APÊNDICE.....	138

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Altura de plântulas (a) e sobrevivência aos 14 dias (b) na combinação de tratamentos de raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial do item 3.2.3.....	44
Figura 2.	Sobrevivência de plantas M_1 à maturidade(a) e fertilidade em panículas M_1 (b) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.....	47
Figura 3.	Frequência de mutações de clorofila ao nível de panículas (Msp) (a) e ao nível de plântulas M_2 (Msd) (b) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.....	55
Figura 4.	Frequência de mutantes de clorofila ao nível de plântulas M_2 (Mtsd) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3..	57
Figura 5.	Eficiência mutagênica Msp/I e Msp(1-I/100) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.....	60
Figura 6.	Eficiência mutagênica Msp/ L_1 (a) e Msp(1- L_1 /100) (b) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.....	64
Figura 7.	Eficiência mutagênica Msp/ L_2 e Msp(1- L_2 /100) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.....	66

Figura 8. Eficiência mutagênica Msp/S e Msp(1-S/100) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.....	70
Figura 9. Eficiência mutagênica Msd/I (a) e Msd(1-I/100) (b) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.....	72
Figura 10. Eficiência mutagênica Msd/L ₁ (a) e Msd(1-L ₁ /100) (b) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.....	74
Figura 11. Eficiência mutagênica Msd/L ₂ (a) e Msd(1-L ₂ /100) (b) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.....	76
Figura 12. Eficiência mutagênica Msd/S (a) e Msd(1-S/100) (b) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.....	79
Figura 13. Eficiência mutagênica Mtsd/I (a) e Mtsd(I-1/100) (b) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica. (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.....	81
Figura 14. Eficiência mutagênica Mtsd/L ₁ e Mtsd(1-L ₁ /100) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica. (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.....	84
Figura 15. Eficiência mutagênica Mtsd/L ₂ e Mtsd(1-L ₂ /100) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica. (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.....	86

Figura 16. Eficiência mutagênica M_{tsd}/S (a) e $M_{tsd}(1-S/100)$ (b) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica. (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.....	88
Figura 17. Espectro de mutação de clorofila dos tratamentos individuais de raios-gama (a) e azida sódica (b).....	96
Figura 18. Espectro de mutação de clorofila globalizado de raios-gama e azida sódica.	98
Figura 19. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios-gama e azida sódica, para os danos: redução de altura (a) e sobrevivência aos 14 dias (b).Os tratamentos estão descritos em 3.2.3....	102
Figura 20. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios-gama e azida sódica, para os danos: letalidade à maturidade (a) e esterilidade (b).Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.....	106
Figura 21. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios-gama e azida sódica, para os fatores de mutação M_{sp} (a) e M_{sd} (b).Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.....	108
Figura 22. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios-gama e azida sódica para o fator de mutações (M_{tsd}).Os tratamentos estão descritos em 3.2.3....	110
Figura 23. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios-gama e azida sódica para eficiência mutagênica M_{sp}/I e M_{sp}/L_1 .Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.....	113

Figura 24. Efeito de tratamentos por separado e em combinação de raios-gama e azida sódica para as eficiência Msp/L ₂ e Msp/S.....	114
Figura 25. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios-gama e azida sódica para as eficiência Msd/I e Msd/L ₁ .Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.....	116
Figura 26. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios-gama e azida sódica para as eficiência Msd/L ₂ e Msd/S.Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.....	117
Figura 27. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios-gama e azida sódica para as eficiência Mtsd/I e Mtsd/L ₁ .Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.....	119
Figura 28. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios-gama e azida sódica para as eficiência Mtsd/L ₁ e Mtsd/S.Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.....	120
Figura 29. Contraste entre os valores dos índices de eficiência mutagênica Msp/I e Msp(1-I/100) para valores simulados tomados da diagonal com pendiente negativa das Tabelas 29 e 30.....	150

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Principais atributos de cultivares mutantes conseguidos através da propagação direta de mutantes induzidos (O número entre parênteses indica os cultivares com tais atributos).....	7
Tabela 2. Letalidade (L), Redução da altura de plântulas (I), esterilidade (S) na geração M_1 , frequência de mutações de clorofila (Msp e Msd) ⁽¹⁾ na geração M_2 , correspondente às maiores eficiências mutagênicas nas bibliografias citadas ⁽²⁾ , produzidas por tratamento de sementes de arroz com radiação gama.....	20
Tabela 3. Letalidade (L), redução de altura de plântulas (I), esterilidade (S) na geração M_1 , frequência de mutações de clorofila (Msp e Msd) ⁽¹⁾ na geração M_2 correspondente às maiores eficiências mutagênicas nas bibliografias citadas ⁽²⁾ produzidas por tratamento de sementes de arroz com mutagênicos químicos.....	22
Tabela 4. Letalidade (L), esterilidade (S) na geração M_1 , frequência de mutações de clorofila (Msp e Msd) ⁽¹⁾ na geração M_2 correspondente às maiores eficiências mutagênicas nas bibliografias citadas ⁽²⁾ produzidas por tratamento de sementes de arroz com radiação-gama e azida sódica...	24
Tabela 5. Esquema da análise de variância para cada caráter quantitativo avaliado na geração M_2	38

Tabela 6. Efeito do tratamento com raios-gama e azida sódica sobre a altura de plântulas M_1 , sobrevivência aos 14 dias, sobrevivência à maturidade e fertilidade de arroz.....	40
Tabela 7. Efeito do tratamento com raios-gama e azida sódica sobre redução de altura de plântulas M_1 (I), letalidade aos 14 dias (L_1), letalidade à maturidade (L_2) e esterilidade (S), em porcentagem com relação à testemunha, em arroz.....	41
Tabela 8. Tamanho da amostra para a avaliação dos efeitos de tratamentos de raios-gama e azida sódica.....	42
Tabela 9. Espectro de mutação de clorofila dos tratamentos com raios-gama e azida sódica...	93
Tabela 10. Teste de homogeneidade dos espectros de mutações do tratamento combinado de raios-gama e azida sódica e respectivos tratamentos individuais.....	99
Tabela 11. Efeito de combinação de tratamento com raios-gama e SA sobre os danos: redução de altura de plântulas M_1 (I), sobrevivência aos 14 dias (L_1), letalidade à maturidade (L_2), redução da fertilidade (S) e das frequências ao nível de panícula M_1 , (M_{sp}), ao nível de plântulas M_2 (M_{sd}) e ao nível de mutantes/plântulas M_2 (M_{tsd}).....	105
Tabela 12. Efeito de combinação de tratamento com raios-gama e SA sobre as frequências de mutações ao nível de panícula M_1 , (M_{sp}), ao nível de plântulas M_2 (M_{sd}) e ao nível de mutantes/plântulas M_2 (M_{tsd}).....	111

Tabela 13. Efeito de combinação de tratamento de raios-gama e SA sobre as eficiências mutagênicas Msp/I, Msp/L ₁ , Msp/L ₂ e Msp/S.....	112
Tabela 14. Efeito de combinação de tratamento de raios-gama e SA sobre as eficiências mutagênicas Msd/I, Msd/L ₁ , Msd/L ₂ e Msd/S.....	115
Tabela 15. Efeito de combinação de tratamento de raios-gama e SA sobre as eficiências mutagênicas Mtsd/I, Mtsd/L ₁ , Mtsd/L ₂ e Mtsd/S.....	121
Tabela 16. Variâncias, médias e coeficiente de variação (CV) de 3 caracteres avaliadas na geração M ₂ originados do tratamento de raios-gama e azida sódica. Piracicaba-SP, 1992.....	122
Tabela 18. Média, desvio padrão, coeficiente de variação relativa (CVt/CVñt) e amplitude para CC, DIF e NP na geração M ₂ originados do cultivar IAC-1246 irradiado e tratado com AS. Piracicaba-SP, 1992.....	124
Tabela 19. Teste de "F" (Vt/Vñt) e variâncias devidas ao tratamento mu-tagênico (St ²), estimadas para três caracteres, CC, DIF e NP, avaliadas na geração M ₂ originadas do cultivar IAC-1246 irradiado e tratado com SA. Piracicaba-SP, 1992.....	...140
Tabela 20. Valores do teste de Z* da sobrevivência aos 14 dias de plântulas M ₁ originados do tratamento com raios-gama e azida sódica em arroz.....	141

Tabela 21. Valores do teste de Z^* da sobrevivência à maturidade de plantas M_1 originados do tratamento com raios-gama e azida sódica em arroz.....	142
Tabela 22. Valores do teste de Z da fertilidade de plantas M_1 originados do tratamento com raios-gama e azida sódica em arroz.....	142
Tabela 23. Valores do teste de Z^* da frequência de mutações de clorofila Msp, originados do tratamento de raios-gama e azida sódica em arroz.....	143
Tabela 24. Valores do teste de Z^* da frequência de clorofilas Msd, originados do tratamento combinado de raios-gama e azida sódica em arroz.....	...144
Tabela 25. Valores do teste de Z^* da frequência de mutantes de clorofila (Mtsd) originados do tratamento com raios-gama e azida sódica em arroz.....	145
Tabela 26. Eficiência mutagência Msp/Dano e Msp(1-Dano/100) do tratamento combinado de raios-gama e azida sódica em arroz	146
Tabela 27. Eficiência mutagência Msd/Dano e Msd(1-Dano/100) do tratamento combinado de raios-gama e azida sódica em arroz.....	146
Tabela 28. Eficiência mutagência Mtsd/Dano e Mtsd(1-Dano/100) do tratamento combinado de raios-gama e azida sódica em arroz.....	147
Tabela 29. Eficiência mutagência Msp/I para valores simulados de Msp e I.....	151
Tabela 30. Eficiência mutagência Msp(1-I/100) para valores simulados de Msp e I.....	152

EFICIÊNCIA MUTAGÊNICA DE RAIOS-GAMA E AZIDA SÓDICA EM SEMENTES DE ARROZ (*Oryza sativa* L.)

Autor: RICARDO MONTALVÁN DEL AGUILA

Orientador: PROF. DR. AKIHIKO ANDO

RESUMO

Sementes do cultivar de arroz de sequeiro IAC-1246 foram tratadas com dosagens de 10, 15 e 20 e 30 Krad de raios-gama e concentrações de 0,5, 1,0 e 5,0 mM de azida sódica (SA). O primeiro objetivo foi analisar o efeito e eficiência mutagênica de cada mutagênico e em combinação, através de mutações de clorofila. Um segundo objetivo foi avaliar o efeito dos tratamentos sobre a média e a variância de plantas M_2 dos seguintes caracteres: número de dias até o início de floração (DIF), comprimento do colmo (CC) e número de perfilhos (NP).

Concentrações maiores ou iguais a 1,0 mM de azida sódica ocasionaram maiores danos que os de raios-gama. Os tratamentos combinados incrementaram os danos, princi-

palmente sobre a altura de plântula e fertilidade de panículas M_1 .

Os tratamentos com SA mostraram maior frequência de mutações de clorofila, seja em tratamento individual ou em combinação. A eficiência mutagênica da SA foi superior aos raios gama nas concentrações de 1,0 e 5,0 mM e inferior na de 0,5 mM.

O espectro de mutações de clorofila dos raios-gama e de azida sódica foi parecido quanto a tipos diferentes de mutações, todavia quanto a frequência dos diferentes tipos de mutantes, seja na condição de tratamento individual ou em combinação.

Quanto ao efeito aditivo na combinação de mutagênicos, em média, os danos tiveram efeitos mais aditivos que as frequências de mutações. Contudo a frequência de mutantes ao nível de plântulas M_2 (Mtsd), mostrou em média, alto efeito aditivo e, em alguns casos, efeito sobre-aditivo. O efeito aditivo da eficiência foi bem menor que a dos danos, com ligeiro destaque de Mtsd/Danos.

Os tratamentos mutagênicos incrementaram as variâncias, mantendo a média, nos caracteres comprimento do colmo (CC) e dias até o início da floração (DIF) na geração M_2 . Contudo, não incrementaram a variância de número de perfilhos (NP).

**MUTAGENIC EFFICIENCY OF GAMA RADIATION AND SODIUM
AZIDE IN RICE SEEDS (*Oryza sativa* L.)**

Author: RICARDO MONTALVÁN DEL AGUILA

Adviser: PROF. DR. AKIHIKO ANDO.

SUMMARY

Seeds of rice cultivar IAC-1246 were treated with dose of 10, 15, 20 and 30 Krad of gamma-rays and concentrations of 0.5 1.0 and 5.0 mM of sodium azide (SA). The first objective of the present study was to analyse mutagenic effect and efficiency of single mutagenic treatments as well in combination of the with, through chlorophyll mutations observed in the M_2 . The second objective was to asses the effect of treatments on mean and variance of the M_2 plants regarding the following characters: number of days to beginning of flowering (DIF), culm length (CC) and tiller number (NP).

Concentrations higher or equal to 1.0 mM of SA caused more damages than gamma-rays. Combined treatments

increased damages in comparison with single treatments, especially regarding the following characters: seedling height and fertility of M_1 panicles.

Treatments with sodium azide showed higher frequency of chlorophyll mutation than gamma-rays, in both single and combined treatments. Mutagenic efficiency of sodium azide was higher than that of gamma-rays at concentrations of 1,0 and 5,0 mM and lower at 0,5 mM.

Both gamma-rays and sodium azide produce a similar chlorophyll mutation spectrum when different types of mutation are considered. However, the spectrum was not alike regarding the frequency of chlorophyll mutants both in single treatment or in combination.

Regarding the additive effect of damages in mutagenic combinations, the damages showed more additive effect on the average, than the frequency of the mutations. However, mutant frequency based on the M_2 seedling (Mtsd) showed high additive effect and in a few cases an over-additive effect. The additive effect regarding the efficiency was lower than for damages, with some distinction in Mtsd/Damages.

Mutagenic treatments increased variance, with no change on the mean value, in the characters culm length (CC) and days to beginning flowering (DIF) in the M_2 generation. However, no increase of variance in tiller number (NP) was observed.

1. INTRODUÇÃO

A variabilidade genética é o primeiro requisito para melhorar uma cultura em qualquer um de seus caracteres. A fonte de variabilidade disponível para o melhorista vem de mutações que ocorrem espontaneamente ou são artificialmente induzidas.

O melhoramento de plantas envolve procedimentos de ampliação da variação genética, seleção de genótipos desejáveis, avaliação dos genótipos selecionados, e finalmente, multiplicação e lançamento de novos cultivares.

No melhoramento por mutação induzida, a ampliação da variação genética é feita através da influência de mutagênicos. Apesar do método ter suas vantagens e limitações, ele tem sido utilizado no desenvolvimento de muitos cultivares melhorados, em numerosas culturas, tais como trigo, arroz, cevada, soja, lupino, hortaliças, ornamentais, etc. Os caracteres pelos quais os cultivares têm sido melhorados também são múltiplos e envolvem rendimento, resistência ao acamamento, resistência a doenças, maturidade, comprimento da haste, etc. Estes fatos mereceram a apreciação de FEHR (1987), ao afirmar que a mutação artificial pode ser um meio prático para conseguir melhoramento genético em espécies cultivadas.

A indução artificial de mutações é realizada com o uso de mutagênicos físicos e químicos, os quais aumentam sensivelmente a frequência de mutação, quando comparado a sua ocorrência espontânea. Todavia, para o uso extensivo de mutantes no melhoramento de plantas, a alta eficiência de sua produção é essencial. Quer dizer que a utilidade de qualquer agente mutagênico depende não só de sua efetividade mutagênica (efeito/dose) mas, também, de sua eficiência. A eficiência mutagênica é a produção de mudanças desejáveis, livre de associações com alterações genéticas indesejáveis. Isto, geralmente, é medido pela proporção da frequência mutagênica em relação aos efeitos danosos associados aos tratamentos mutagênicos na geração M_1 , tais como: redução de altura, quebras cromossômicas, esterilidade, letalidade, etc. (GAUL, 1972).

O melhoramento por mutação induzida é, principalmente, orientado à obtenção de mutantes para genes qualitativos, e, em menor escala, para genes quantitativos. Entretanto o processo de melhoramento para os genes quantitativos tem tido sucesso às custas da variabilidade genética das populações utilizadas. Em alguns casos, segundo SCOSSIROLI (1977), o progresso genético para o caráter produtividade, de natureza quantitativa, resulta cada vez mais difícil pelo uso de métodos clássicos de melhoramento, uma vez que a variabilidade nas populações tem sido explorada intensamente. Isso aconteceu com o trigo destinado para pão, segundo Natarajan, Sikka e Swaminathan¹, citados por SCOSSIROLI (1977).

NATARAJAN, A.T., SIKKA, S.M., SWAMINATHAN, M.S. Polyploidy, radiosensitivity and mutation frequency in wheats, In: FAO/IAEA. **PEACEFUL USES OF ATOMIC ENERGY. Proceedings.** Genova, IAEA, 1958. p.321-31.

A possibilidade oferecida pelos agentes mutagênicos para induzir nova variabilidade é, por conseguinte, de muito interesse. E, é melhor ainda, se a isso associar-se a possibilidade de avaliar o aumento da frequência de mutação gênica de mutagênicos, extrapolada pela mutação de clorofila, que é visível e qualitativa.

O tratamento mutagênico em que dois diferentes mutagênicos são combinados, tem sido proposto por vários autores como um meio de incrementar a efetividade e eficiência da indução de mutações. Uma importante questão é se os mutagênicos combinados são aditivos, com respeito à frequência de mutação, e não aos danos fisiológicos que ocasionam. Algumas combinações de mutagênicos têm sido testadas, como raios-gama e (DES) (dietil sulfato), raios-gama e EMS (etil metano sulfonato) e outras.

O presente trabalho tem como principais objetivos:

- a) Avaliar o efeito e a eficiência mutagênica da radiação gama e da azida sódica, e da combinação de ambos em sementes de arroz.
- b) Avaliar a influência dos mutagênicos mencionados sobre a média e a variância de alguns caracteres quantitativos, na geração M_2 .

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Mutação induzida e melhoramento de plantas

O papel da mutação induzida no melhoramento de plantas é sujeito a controvérsias entre os autores. ALLARD (1960) reconhece que existem suficientes indicações de resultados positivos das mutações induzidas artificialmente. Entretanto, adverte que ainda há muitas questões a serem resolvidas antes de se poder decidir se o melhoramento por mutação deve ser considerado como um dos principais métodos de melhoramento de plantas, ou deve ser tido como complemento de outros métodos. As questões mais importantes a serem resolvidas, ainda segundo ALLARD (1960), resumidamente, são:

1) as mutações induzidas artificialmente diferem, de alguma forma, das mutações naturais?. SIGURBJORNSSON (1977) parece responder a primeira questão afirmando que a variabilidade causada por indução de mutações não é, essencialmente, diferente da variabilidade ocasionada por mutações espontâneas durante a evolução;

2) as mutações com expressão fenotipicamente construtivas ocorrem com suficiente frequência para tornar a sua busca economicamente rentável?. Poderão elas ser incorporadas nas variedades comercialmente aceitáveis, competindo com outros métodos de melhoramento genético?

A segunda questão de ALLARD (1960) merece dois comentários. Em primeiro lugar, o aumento da frequência de mutações úteis é um objetivo que vem sendo procurado, inclusive no presente trabalho. Em segundo lugar, de acordo com KAWAI (1986), o número de cultivares mutantes obtidos através do uso indireto de mutantes é maior que os de uso direto.

FEHR (1987) também reconhece que o melhoramento por indução de mutações tem sido usado para desenvolver cultivares melhorados, em numerosas culturas e caracteres. Todavia, afirma que o número é extremamente pequeno quando comparado com o número daqueles desenvolvidos por hibridação e seleção. Mesmo assim, notou que os extensivos estudos sobre mutagênese artificial para o melhoramento genético de cultivares, durante as décadas de 50 e 60, demonstraram que o melhoramento por mutação induzida foi de importância limitada para melhorar caracteres de valor econômico, particularmente aqueles que são quantitativamente herdados.

Entretanto, FEHR (1987) ressalta que esta falta de sucesso não pode levar à conclusão de que o melhoramento por indução de mutações não tenha lugar nos modernos programas de melhoramento de plantas. Uma conclusão mais adequada, segundo ele, seria que a função desta técnica deva ser cuidadosamente definida. Melhoramento por mutação induzida seria mais adequado quando um caráter não está disponível no germoplasma a ser usado nas hibridações.

A respeito da confrontação feita por FEHR (1987) sobre o número de cultivares lançados por mutação induzida e por hibridação e seleção, seria conveniente dizer que o

número de melhoristas convencionais é muito maior do que os que utilizam mutação induzida. Sobre a importância limitada do melhoramento de caracteres de importância econômica conseguido por mutação induzida, KAWAI (1986) mostra uma tabela generosa dos principais atributos em cultivares mutantes obtidos através da propagação direta de mutantes induzidos (Tabela 1).

Nem todos os autores de livros sobre melhoramento de plantas salientam as limitações do melhoramento por indução de mutações. SIGURBJÖRNSSON (1983) destaca numerosos exemplos bem sucedidos de mutantes induzidos, assim como aborda os vários usos da indução de mutações, que resumidamente são:

1. Um mutante induzido pode corrigir um defeito específico de um cultivar bem adaptado sem significativa alteração do resto do genótipo. Por exemplo, um mutante induzido no cultivar mexicano de trigo de grão vermelho 'Sonora-64' carregava grãos de cor âmbar que são preferidos por consumidores de origem indígena (Sigurbjörnsson, citado por SIGURBJÖRNSSON, (1980).
2. O sucesso e popularidade de um cultivar, ou grupo de cultivares, pode acarretar o chamado problema da vulnerabilidade genética aos estresses ocasionados por fatores bióticos e abióticos. Os cultivares altamente produtivos de arroz, desenvolvidos nas Filipinas, de colmo curto e forte se originaram a partir do mutante espontâneo do Taiwan, 'Deo-Geo-Woo-Gen'. Ao contrário, os mutantes de colmo curto de cevada são resultantes de

SIGURBJÖRNSSON, B. Induced mutations in plants. **Scientific American**, New York, 224: 86-95, 1971.

TABELA 1. Principais atributos de cultivares mutantes conseguidos através da propagação direta de mutantes induzidos (O número entre parênteses indica os cultivares com tais atributos).

Grupo	Atributo melhorado
Cereais	Precocidade (64), Alto rendimento (63), Resistência a doenças (58), Colmo curto (51), Colmo rígido e resistência ao acamamento(31), Insensibilidade ao inverno(19), Tamanho e forma de grão (18), Tolerância à seca (14), Perfilhamento abundante (9), Resistência a inseto (5).
Legumes	Alto rendimento (26), Resistência à doenças (14), Haste curta (9), Grão grande (6), Alto conteúdo protéico (5), Tipo de planta (4), Crescimento vigoroso (4), Boa qualidade (4), Adequado para cultura mecânica (3).
Oleaginosas	Alto rendimento (10), Alto conteúdo de óleo (4), Boa qualidade do óleo(3), Talo curto(2), Grão grande (2).
Hortaliças	Alto rendimento (7), Precocidade (6), Tolerância a atmosfera quente (4), Boa qualidade (4), Melhor habilidade de armazenamento (3), Forma de fruto (2), Alteração do conteúdo de metabólito secundário (2), Maturação tardia (2), Adequado para cultura mecânica (2).
Frutíferas	Haste curta (5), Precocidade (6), Fruto grande (4), Boa qualidade (2), Resistência à doenças (1), Sem semente (1).
Culturas Industriais	Alto rendimento (4), Talo longo (7), Precocidade (6), Resistência à doenças (5), Boa qualidade (5), Tipo de planta (2), Mais folhas (20), Alto conteúdo de metabólito secundário (2), Cor de folha (2), Características de processamento (2), Crescimento vigoroso (2).
Forragens	Alto rendimento (3), Precocidade (3), Alteração do conteúdo de alcalóide (3), Resistência à doenças (2), Bom brotamento na primavera (1), Tolerância ao congelamento (1), Alto conteúdo protéico (1).
Ornamentais anuais	Cor de flor (123), Mais flores (15), Forma de flor (15), Forma da folha (12), Número de pétalas florais(10), Folha grande (5), Planta grande (5), Planta pequena (5), Flor grande (3), Tipo de planta (2), Taxa de crescimento (2), Número de ramos (1), Novidade ornamental (1), Habilidade de regeneração (1), Longevidade da flor (1).
Ornamentais com raízes e tubérculos	Cor de flor (52), Forma de flor (18), Tipo de planta (13), Talo longo(7), Cor de folha (7), Neutralidade ao fotoperíodo (5), Precocidade(3), Flor grande (2), Cor do talo (2).
Ornamentais perenes	Cor da flor (28), Talo curto (4), Pétalas florais pequenas (1), Folha listrada (3), Crescimento vigoroso (4), Precocidade (1), Mais ramos (1), Maior densidade de flores (1), Mais flores (1).

FONTE: KAWAI (1986).

um número de diferentes mutações e, desse modo, de uma base genética mais ampla. Konzak, citado por SIGURBJORNSSON, (1983), isolou quase 100 mutantes de palha curta de trigo de inverno e 200 de trigo de primavera.

3. Com frequência, para o melhorista é difícil localizar uma fonte conveniente de genes em coleções existentes ou através de exploração. Neste caso, a abordagem lógica é induzir os mutantes desejados. Assim Ismachin e Mikaelson, citados por SIGURBJORNSSON (1983), após uma procura mal sucedida de linhagens precoces e produtivas, numa coleção mundial de arroz, trataram com mutagênicos os cultivares locais e acharam alguns materiais precoces, sem perda de rendimento.
4. O cruzamento entre dois mutantes relacionados com frequência origina um inesperado grau de vigor híbrido. Este fenômeno tem sido encontrado em culturas alógamas e autógamas (Micke, ; Ramirez et al., citados por SIGURB-

KONZAK, C.F. A review of semi-dwarfing gene sources and description of some new mutants useful for breeding short-stature wheats. In: FAO/IAEA. **Induced mutations in cross-breeding**. Viena, IAEA, 1976, p.79-93.

ISMACHIN, M. & MIKALESEN K. Early-maturing mutants for rice-breeding and their use in cross-breeding programs. In: FAO/IAEA. **Induced mutations in cross-breeding**. Viena, IAEA, 1976. p.119-21.

MICKE, A. heterosis bei kreuzungen von mutanten derselben augangsform. In: **Bericht über die arbeitstagung der arbeitsgemeinschaft der saatzuchtleir in Gumpstein, Steiermark**. Austria, p.314-28, 1974

RAMIREZ, E.; ALLAN, R.E.; KONZAK, C.F.; BECKER W.A. Combining hability in winter wheat. FAO/IAEA. **Induced mutations in plants**. Viena, IAEA, 1969. p.445-55.

JORNSSON, (1983). Stoilov e Daskaloff, citados por SIGURBJORNSSON (1983), verificaram que, ao redor de 10% de seus mutantes de milho usados como linhagens endogâmicas, na Bulgária, apresentaram aumento no rendimento, com algumas combinações acima de 25%.

5. As mutações induzidas são úteis no melhoramento de todas as culturas propagadas vegetativamente, sendo essenciais para o melhoramento de cultivares que não tem mecanismos de recombinação (Broertjes e Van Harten, citados por SIGURBJORNSSON, 1983).

Um fato é inegável: o melhoramento através do método de indução de mutações vem mostrando crescentes progressos no lançamento de novas variedades. Assim DONINI et al. (1984) catalogaram os cultivares lançados através da indução de mutações, totalizando 499 cultivares; MICKE (1985) publicou um número maior (689); KAWAI (1986) incrementou o número de cultivares para 794 e MICKE et al. (1993) para 1261.

STOILOV, M. & DASKALOFF, S. Some results on the combined use of induced mutations and heterosis breeding. In: FAO/IAEA. **Induced mutations in cross-breeding**. Viena, IAEA, 1976. p.179-88.

BROERTJES, C. & VAN HARTEN, A.M. Application of mutation breeding methods in the improvement of vegetatively propagated crop. Amsterdam, Elsevier, 1978.

2.2. Eficiência mutagênica

A idéia de se produzir mutações artificialmente com fins de melhoramento foi primeiro estabelecida por De Vries em 1901, segundo GUSTAFSSON e GADD (1966). Desde então, foram muitas as variedades lançadas como produto do uso dessa técnica, tal como referida no item anterior. Entretanto, a questão da eficiência de indução de mutações é um assunto ainda a ser resolvido. A frequência de mutações que se obtém é ainda baixa, precisando de muito trabalho e recurso para sua detecção. A utilização de maiores dosagens na procura de uma maior frequência esbarra em um aumento, muitas vezes desproporcional, dos efeitos desfavoráveis nas populações resultantes.

O termo eficiência mutagênica tem sido introduzido por EHRENBERG et al. (1958), e outros. Este termo tem sido empregado para comparar os efeitos mutagênicos de radiações ionizantes e mutagênicos químicos, quanto à frequência de mutação induzida relativa a outros efeitos biológicos danosos tais como letalidade e esterilidade, os quais causam eliminação de mutantes.

KONZAK et al. (1965) e NILAN et al. (1965) têm definido mais claramente eficiência mutagênica como sendo "fator de mutações/dano biológico". Os critérios para avaliar o dano biológico são: altura de plântula, sobrevivência, aberrações cromossômicas mitóticas e meióticas e, de particular interesse, a proporção "fator de mutação/esterilidade". Estas ideias colocadas como fórmulas, são definitivamente claras.

A magnitude da eficiência mutagênica, segundo KONZAK et al. (1965), pode ser avaliada por Msp/L , Msp/I e Msp/S , onde:

Msp = Número de mutações / 100 panículas de plantas M_1

L = % de redução da sobrevivência (letalidade)

I = % de redução de altura de plântulas

S = % de redução de fertilidade (esterilidade)

$$S = 100 \left(1 - \frac{\frac{Nsd}{Nsp} X - \frac{Nsd}{Nsp} C}{1} \right)$$

Nsd = Número de plântulas M_2

Nsp = Número de panículas M_1

Nsd

--- C = % de fertilidade do controle (testemunha)

Nsp

Nsd

--- X = % de fertilidade do tratamento (dosagem ou
concentração)

Outras medidas do fator de mutações são sugeridas por KONZAK et al. (1965). Estas são:

Msd = Número de mutações / 100 plântulas M_2 = Frequência de mutações na base de plântulas M_2 .

M_p = Número de mutações / 100 Plantas M_1 = Frequência de mutações na base de plantas M_1 .

GAUL (1960) fez um avaliação crítica dos métodos para determinar a frequência de mutações de clorofila, depois do tratamento de sementes com mutagênicos. Apontou cada uma das limitações dos métodos existentes e sugeriu mais um indicador que, segundo ele, elimina a distorção derivada da subestimação da frequência de mutações como consequência do tamanho de progênie muito pequena; trata-se da proporção número de mutantes por 100 plântulas M_2 . Como GAUL (1960) não colocou uma abreviação a esta proporção, no presente trabalho ela será nomeada Mtsd. AASTVEIT (1967) e outros pesquisadores utilizaram a proporção Mtsd, sugerida por GAUL (1960).

A utilidade dos agentes mutagênicos e a natureza dos tratamentos requeridos para uma alta eficiência mutagênica dependem das propriedades dos agentes e dos sistemas biológicos, nos quais é aplicado, e de diversos fatores ambientais.

2.2.1. Propriedades dos mutagênicos químicos e fatores modificadores

Segundo KONZAK et al. (1965), algumas propriedades que limitam a utilidade dos agentes mutagênicos químicos são:

- 1) Solubilidade. A amplitude das concentrações disponíveis para o experimentador é, obviamente, restrita à solubilidade do mutagênico no meio.
- 2) Toxicidade. Os mutagênicos variam amplamente nas suas propriedades tóxicas. Devido à alta toxicidade, baixas

dosagens de mutagênicos devem ser aplicadas, fato este que limita a produção de mutações.

- 3) Reatividade. O mutagênico, além de reagir com o sistema biológico para produzir mutações ou danos, também pode reagir para produzir produtos inócuos, levando à destruição parcial do mesmo. Tal destruição pode ocorrer em reações com componentes do sistema solvente, do tampão e solubilizadores (se usados).

Em compensação a estas propriedades, que limitam o uso de mutagênicos químicos, existe uma série de fatores que modificam positiva ou negativamente a ação dos mesmos. Um apanhado geral desses fatores foi feito por ANDO (1991), que a seguir são resumidos:

- 1) Concentração. Existe um limiar de concentração acima do qual os efeitos caem abruptamente.
- 2) Temperatura. A temperatura da solução mutagênica tem muita importância com a manutenção da sua estabilidade. Na prática é recomendado temperaturas entre 20 a 25°C.
- 4) pH. O pH mostra um papel importante na eficiência mutagênica.
- 5) Pré-hidratação. Aumenta o efeito como consequência de uma maior penetrabilidade da substância química.
- 6) Pós-lavagem. Esta operação evita os efeitos prejudiciais não genéticos dos mutagênicos, após o período de tratamento.
- 7) Íons metálicos tais como Zn^{++} , Cu^{++} , Mn^{++} , Al^{++} e Cd^{++} aumentam o efeito mutagênico.
- 8) Agentes carregadores. Foi relatado que o DMSO (Sulfóxido dimetil) incrementa a absorção de mutagênicos químicos, embora outros resultados são conflitantes.

- 9) Oxigênio. Em geral não afeta, salvo casos raros como com etoxicafeína.

2.2.2. Propriedades dos mutagênicos físicos e fatores modificadores

As propriedades dos mutagênicos físicos, especificamente das radiações, também determinam, em alguma extensão, sua atividade mutagênica. BRIGGS (1970), fornece informações sobre as propriedades dos diferentes tipos de radiação disponíveis para mutagênese artificial. Todavia, existe um fator não biológico que afeta a radiosensitividade em sementes, que é necessário considerar. É o chamado efeito oxigênio, que aumenta os danos das radiações, e que, segundo NILAN et al. (1965), depende de: 1) disponibilidade de oxigênio; 2) do conteúdo de água da semente durante e após a irradiação; 3) da temperatura durante e após a irradiação e 4) do tipo, energia e dose de radiação.

Dentro dos fatores modificadores de tipo físico temos:

- Tipo de radiação: nêutron rápido, nêutron térmico, raios-gama e raios-X têm diferentes efeitos mutagênicos.
- Temperatura: Numa experiência, o pré-aquecimento antes da irradiação influenciou positivamente a recuperação da planta. Ao contrário, o pós-aquecimento causou danos.
- Taxa de dose ou intensidade de dose: Quanto maior a taxa, é observado maior efeito biológico.

Todavia, é reconhecido que a resposta mutacional de mutagênicos físicos e químicos pode ser influenciada por

várias propriedades dos sistemas biológicos.

2.2.3. Propriedades dos sistemas biológicos

As propriedades dos sistemas biológicos que afetam a resposta aos mutagênicos químicos são, segundo KONZAK et al. (1965):

- 1) O estado fisiológico do tecido, que inclui a condição metabólica, os estádios da divisão celular e o desenvolvimento do tecido. Assim, sementes secas não são afetadas pelos vapores de mutagênicos como dietil sulfato.
- 2) A estrutura do tecido exposta ao mutagênico e a distância que os mutagênicos ativos devem atravessar para produzir reações produtoras de mutações. Assim, impedimentos tais como cascas ou coberturas duras em sementes afetam a taxa de difusão do mutagênico ativo até os tecidos mutáveis.
- 3) A composição genética determina o número relativo e estrutura dos sítios capazes de originar uma determinada mutação.
- 4) A inata capacidade para a reprodução de mutações difere enormemente para vários tecidos e, provavelmente, difere marcadamente com o estágio de divisão celular. Assim, alguns tecidos somáticos podem ser isolados só por propagação vegetativa. Células diferenciadas, usualmente, são incapazes de reprodução.
- 5) A inata capacidade dos tecidos para crescimento difere notoriamente. O tipo de tecido e o estado de desenvolvimento determinam a natureza do tratamento que pode ser aplicado com sucesso. Por exemplo, sementes dormentes permitem uma ampla variedade de condições de

tratamento. Sementes com a dormência quebrada são, geralmente muito mais sensíveis.

- 6) As diferentes capacidades sintéticas de células e tecidos, em diferentes estádios de divisão celular ou atividade metabólica, podem afetar a capacidade das células repararem ou substituírem componentes lesados. Isto pode afetar a produção de mutações, por falta de fixação das mutações que, segundo Witkin, citado por KONZAK et al. (1965), depende do tempo de síntese, da capacidade de síntese e da nutrição das células tratadas com mutagênicos.

As propriedades dos sistemas biológicos, na influência de mutagênicos físicos, envolvem processos complexos físicos, químicos e biológicos. ANDO (1991) assinala os seguintes fatores biológicos:

- 1) Fase de ciclo celular: a ordem decrescente de sensibilidade é mitose (M) > síntese (S) > fase G_2 > fase G_1
- 2) Tecido. A sensibilidade mutagênica está diretamente relacionada com a atividade reprodutiva e inversamente com o grau de diferenciação. Mais sensível é o tecido meristemático que o parênquima.

WITKIN, E.M. Time, temperature and protein synthesis: A study of ultra violet-induced mutation in bacteria. **Cold Spring Harbor Symposia**, New York, **21**: 123-40, 1956

- 3) Espécie. Sparrow et al., citados por ANDO (1991), observaram que a radiosensitividade está relacionada com o volume de cromossomos e esta, por sua vez, está relacionada com o volume nuclear.
- 4) Fator genético. Lamprecht citado por ANDO (1991), mostraram que a radiosensitividade é fator monogênico.
- 5) Ploidia. Quanto maior a ploidia, menor sensibilidade. Alopoliplóides e autopoliplóides têm radiosensitividades diferentes.
- 6) Morfologia de cromossomos. A frequência de aberrações cromossômicas dicêntricas é proporcional ao número de braços cromossômicos, cromossomos acrocêntricos e telocêntricos apresentarão menores frequências.

2.2.4. Fatores fisiológicos.

O estado fisiológico do material vivo tratado com mutagênicos químicos influencia os efeitos mutagênicos.

- 1) Idade. Sementes envelhecidas têm maior radiosensitividade.
- 2) Conteúdo de água (principalmente em sementes). Quanto maior conteúdo, maior sensibilidade.

SPARROW, A.H.; SCHAIRER, L.A.; SPARROW, C.R. Relationship between nuclear volumes, chromosome numbers, and relative radiosensitivity. *Science*, Lancaster, **141**: 163-66, 1963.

LAMPRECHT, H. Röntgen empfindlichkeit und genotypische konstitution bei *Pisum*. *Agri-Hortique Genética*, Landskrona, **14**: 161-76, 1956.

- 3) Efeito de armazenamento. Quanto maior umidade na semente, maior o efeito de armazenamento pós-irradiação.
- 4) Nutrição. Problemas nutricionais afetam o sistema de reparo das células.

2.3. Eficiência de mutagênicos físicos, químicos e em combinação.

Numerosos artigos têm sido publicados sobre eficiência de mutagênicos, embora em muitos casos só é possível ter acesso aos resumos destes trabalhos. Nesta linha, a pesquisa em cevada é muito profusa, tendo sido recompiladas por KAWAI (1969), KONZAK et al. (1965) e outros. Para não dispersar muito o tema serão abordados unicamente as eficiências dos raios-gama e dos mutagênicos químicos, aplicados individualmente ou em combinação, com mais detalhe em arroz.

2.3.1. Eficiência das radiações ionizantes

Os primeiros trabalhos sobre o uso de radiações ionizantes em arroz remontam aos relatos de Yamada em 1917, segundo GUSTAFSSON & GADD (1966), visando o chamado efeito estimulante dos raios-X sobre o rendimento.

Um dos primeiros trabalhos do uso dos raios-gama como agente mutagênico foi realizado em 1958 por Fujii e Matsumura, citados por MATSUO & YAMAGUCHI (1962). Eles analisaram sementes dormentes de várias plantas cultivadas e estimaram a radiosensitividade através de decréscimo da taxa de germinação. Salientaram que as famílias de plantas *Cruciferae*, *Leguminosae* e *Compositae* foram as mais

resistentes à radiação que *Gramineae*, *Commeliaceae* e *Liliaceae*.

A seguir, serão feitos comentários sobre a eficiência mutagênica dos raios-gama no arroz. Para esse fim, foi elaborada a Tabela 2, onde foram considerados artigos com informações de eficiências mutagênicas segundo as fórmulas consideradas em 2.2., ou que permitiram calculá-las.

Na Tabela 2, observa-se que os danos L, I e S aumentam com a dose usada; entretanto, tal quantidade não é proporcional ao aumento na dose. A frequência de mutações, com base nas espigas M_1 resultantes do tratamento de sementes, nunca ultrapassou 43,4% em arroz, tendo correspondido a uma dosagem de 12 Krad de raios-gama na variedade Jaya, obtidas por REDDI & RAO (1988). Entretanto, é notória a grande variação de resultados para diferentes variedades. Assim, o valor mínimo observado para Msp foi de 3,5%, correspondendo a uma dosagem de 10 Krad na variedade Tella Hansa (RAO & RAO 1983), dosagem bastantesemelhante a 12 Krad que rendeu o máximo Msp, embora em outra variedade. Com relação à Msd, são poucas as informações disponíveis, sendo os maiores valores de 3 a 4,4% para dosagens que vão de 8 a 15 Krad, e é a menor dosagem (8 Krad) aquela com a maior eficiência (4.4).

Com referência às eficiências para Msp sobre L, S e I houve uma variação de um mínimo de 0,11 até 3,77; entretanto, KAUL & BHAN (1977), também reportaram um valor para Msp/L de 76,67, que mais parece um "outlayer"

FUJII, T. & MATSUMARA, S. *Japanese Journal of Genetics*, Tokio, **33**: 389-397, 1958. (MATSUO & YAMAGUCHI, 1962, não mencionaram o título)

Tabela 2. Letalidade (L), Redução da altura de plântulas (I), esterilidade (S) na geração M_1 , freqüência de mutações de clorofila (Msp e Msd)⁽¹⁾ na geração M_2 , correspondente às maiores eficiências mutagênicas nas bibliografias citadas⁽²⁾, produzidas por tratamento de sementes de arroz com radiação gama.

Varied. Dose (Krad)	L	I	S	Msp	Msd	Msp/L	Msp/S	Msp/I	Msd/L	Msd/S	Refer. Bibli.
Dungham Shali											
20			43,40	5,0	0,980	0,11			0,022		(38)
18				13,0	0,019	0,28	0,440				(37)
IR-8											
20		4,8	48,2	13,0			0,270	2,700		0,019	(25)
30	25,1	17,1	77,7	17,1		0,68	0,220	1,000	0,067	0,022	
Jhona											
20		10,0	19,3	11,0			0,570	1,100		0,019	
30	6,7	18,3	78,6	16,5		2,47	0,210	0,900	0,286	0,024	
Basmati											
20	0,3		56,7	23,8		76,67	0,420		4,940	0,026	
30	17,9	11,6	51,18	17,4		0,97	0,340	1,500	0,072	0,025	
Dourado Precoces											
8	1,1	12,1	3,8	4,0		3,77	1,070	0,330			(21)
32	3,2	18,9	23,7	4,1		1,27	0,170	0,220			
Tella Hansa											
10				3,5							(45)
15				8,7	0,250		0,700				
				15,0	3,100		0,680				
Jaya											
12				4,3	3,000		0,100				(47)
IET5656											
8				24,4	4,400		0,240				
Fujiminori											
6				7,1	1,600		0,100				
Taichung Native NO.1											
10	32,0	68,0	57,0	34,4		1,08	0,600				(54)
Taichung 65											
10	37,0		20,5	21,2		0,57	1,030				

(1) Msp = Número de mutações/Número de panículas M_1 , Msd = Número de mutações/Número de plântulas M_2 .

(2) O número da referência bibliográfica refere-se àquele da bibliografia.

resultante de um valor excepcionalmente baixo de $L=0,31$. Contudo este resultado é perfeitamente possível pela natureza da fórmula de KONZAK et al. (1965) aplicada. Vê-se mais sobre este assunto em 4.3.1. e no apêndice. Em termos gerais, os maiores valores de eficiência são obtidos nas dosagens iguais ou inferiores a 20 Krad.

2.3.2. Eficiência de mutagênicos químicos

Muitas substâncias químicas têm sido testadas por seus efeitos mutagênicos em arroz, porém serão consideradas as mais utilizadas. Embora os testes tenham sido realizados em diferentes variedades e com diversos métodos, é possível algum tipo de comparação das eficiências relativas entre os diferentes mutagênicos.

Dos dados compilados na Tabela 3 pode-se observar que a azida sódica é o mutagênico mais eficiente para Msp e Msd, superando largamente as outras substâncias, inclusive o EMS, que na revisão de KAWAI (1969) foi considerada como o mais eficiente mutagênico em aveia. Quanto à eficiência mutagênica para Msp/L, a azida sódica é destaque. Já para Msp/I, onde se sobressai o DES, ainda não existem dados disponíveis de azida sódica para efeitos de comparação. Quando comparada a eficiência mutagênica na base de Msd/danos, a azida sódica volta a ter bastante importância.

2.3.3. Eficiência da combinação de mutagênicos

A manifestação de aditividade das frequências mutagênicas nos tratamentos combinados constitui uma das aspirações mais perseguidas pelos pesquisadores da área de mutação induzida. Assim, AASTVEIT (1967) trabalhando com uma combinação de raios gama e EMS obteve over-aditividade no total de mutantes por 100 espigas M_1 de cevada e na frequência de mutantes por 1000 plântulas M_2 . Todavia, a eficiência mutagênica para letalidade (Msp/L e Msd/L) não expressa tal aditividade, sendo no total dos casos

Tabela 3. Letalidade (L), Redução da altura de plântulas (I), esterilidade (S) na geração M_1 , frequência de mutações de clorofila (Msp e Msd)⁽¹⁾ na geração M_2 , correspondente às maiores eficiências mutagênicas nas bibliografias citadas⁽²⁾, produzidas por tratamento de sementes de arroz com mutagênicos químicos⁽³⁾.

Variedade	Concentr.	L	I	S	Msp	Msd	Msp/L	Msp/S	Msp/I	Msd/L	Msd/S	Refer. Bibli.
Dunghan Shali												
EMS 2%	50,8			43,0	34,0	4,60	0,67	0,79				(37)
IR-8												
EMS 0,5%							0,44	1,30		0,046	0,139	(25)
DES 1,5%							0,30	16,00	8,00	0,064	0,334	
Jhona												
EMS 0,5%							1,30	1,00	2,52	0,106	0,079	
DES 1%							0,62	1,80		0,010	0,029	
Basmati												
EMS 1%							1,04	0,90	1,85	0,044	0,096	
Tella Hansa												
HA 0,75					2,5	0,52		1,01				(45)
NMU 0,03%					3,8	0,96		1,20				
NMU 0,03%					13,5	3,04		1,11				
IR-24												
HA 0,75%					3,1	1,55		0,60				
NMU 0,03%					3,3	1,00		0,20				
Jaya												
SA 4 mM					59,1	13,10		0,29				(47)
IET 5656												
SA 5 mM					52,1	18,6		1,36				
Fujiminori												
SA 5 mM					23,5	6,6		0,13				
Dourado Precoce												
SA 10 mM	2,1	36		66,6	18,2		8,50	0,27	0,50			(21)
Jaya												
EMS 0,75%										2,590	0,690	(49)
IR-8												
EMS 1%										7,750	1,170	
IET 6248												
EMS 0,5%										6,550	0,880	
Jaya												
MMS 0,5%										4,650	0,580	
IR-8												
MMS 0,5%										0,470	4,720	
IET 6348												
MMS 0,5%										3,710	0,560	
Jaya												
SA 8 mM										11,50	0,640	
IR-8												
SA 1 Mm										0,480	1,540	
IET 6248												
SA 1 Mm										2,760	0,250	

(1) Msp = Número de mutações/Número de panículas, Msd = Número de mutações/Número de plântulas M_2 .

(2) Número da referência bibliográfica.

(3) DES = Dietil sulfato; EMS = Etil metano sulfonato; HA = Hidroxil amina; MMS = Metil metano sulfonato; NMU = Nitroso metil uretano; SA = Azida sódica.

inferior à soma das eficiências dos tratamentos individuais. Essa falta de coerência é devido a que over-aditividade do fator de mutações é acompanhada de um aumento desproporcional nos danos quando em combinação.

A Tabela 4 apresenta uma compilação dos trabalhos sobre a eficiência da combinação de mutagênicos em arroz. Assim, SIDDIQ & SWAMINATHAN (1968), encontraram no tratamento associado Msp maior eficiência para qualquer um dos tratamentos individuais (20 e 30 Krad de raios-gama e 0,33% de EMS). Entretanto, a combinação de mutagênicos foi adversa em eficiência mutagênica tanto para Msp/L quanto para Msp/S. Também os danos expressos em L e S foram maiores na combinação. Com pouca informação disponível para Msd/L, mostra-se sempre ineficiente em combinação para EMS e -DES (ambos 1%) e 20 Krad de raios-gama segundo KAUL e BHAN (1977).

A eficiência mutagênica de combinação para esterilidade (Msp/S), teve uma maior quantidade de dados bibliográficos ao alcance. Os resultados com EMS 1% e 20 Krad de raios-gama não são animadores. Entretanto, SIDDIQ & SWAMINATHAN (1968) obtiveram um Msp/S da combinação de 20 Krad de raios-gama e 0.33% de EMS superior ao melhor Msp individual deles. Já, o tratamento associado de azida sódica 0,001 M com 4 Krad de raios-gama apresentou melhores resultados. Em dois casos ultrapassou o melhor resultado em tratamento individual e, em outros casos, proporcionou over-aditividade, sendo para outros casos sub-aditivo na combinação (REDDI & RAO, 1988). A eficiência mutagênica para a esterilidade (Msd/S), embora baseada somente no trabalho de KAUL & BHAN (1977), mostra-se relativamente eficiente em combinação, resultando em um caso de over-

Tabela 4. Letalidade (L), esterilidade (S) na geração M₁, frequência de mutações de clorofila (Msp e Msd)⁽¹⁾ na geração M₂, correspondente às maiores eficiências mutagênicas nas bibliografias citadas⁽²⁾, produzidas por tratamento de sementes de arroz com radiação gama e mutagênicos químicos⁽³⁾.

Variedade									Refer
Trat. Mutag.	L	S	Msp	Msp/I	Msp/L	Msp/S	Msd/L	Msd/S	Bibli.
Jhona									
EMS 1%			1,20		0,78	1,00	0,055	0,068	(25)
R.Gama 20Krad			1,10			0,57		0,019	
EMS+R.R.Gama			0,43		0,67	0,31	0,001	0,003	
R.Gama+EMS			0,90			0,47		0,071	
Jhona									
DES 1%					0,62	1,80	0,010	0,029	
R.Gama 20Krad			1,10			0,57		0,029	
DES+R.Gama			0,94		47,00	0,23	0,033	0,016	
R.Gama+DES			1,34		0,96	0,39	0,108	0,044	
IR 8									
DES 1%			3,23		0,55	4,10	0,068	0,050	
R.Gama 20 Krad			2,70			0,27		0,019	
DES+R.Gama			0,23		0,10	0,09	0,010	0,009	
R.Gama+DES			0,61		0,47	0,25	0,080	0,047	
Basmati									
EMS 1%					1,04	0,90	0,044	0,096	
R.Gama 20 Krad					76,60	0,42	4,940	0,026	
EMS+R.Gama					0,21	0,30	0,035	0,052	
R.Gama+EMS					0,10	0,21	0,002	0,005	
Basmati									
DES 1%					0,90	4,55	0,020	0,990	
R.Gama 20 Krad					76,67	0,42	4,540	0,026	
DES+R.Gama			5,25		1,11	0,09		0,031	
R.Gama+DES			2,73		1,99	0,31	0,079	0,012	
Jaya									
R.Gama 4 Krad					0,01				(47)
SA 1mM					0,13				
R.Gama+SA					0,13				
IET 5656									
R.Gama 4 Krad					0,20				
SA 1mM					0,10				
R.Gama+SA					0,27				
Fujiminori									
R.Gama 4 Krad					0,04				
SA 1mM									
R.Gama+SA					0,03				
Jaya									
R.Gama 6 Krad					0,05				
SA 1mM					0,13				
SA+R.Gama					0,01				
IET 5656									
R.Gama 6 Krad					0,23				
SA 1mM					0,10				
SA+R.Gama					0,28				
Fujiminori									
R.Gama 6 Krad					0,10				
SA 1mM									
SA+R.Gama					0,03				

continua

Continuação Tabela 4.

Variedade Trat.Mutag.	L	S	Msp	Msp/I	Msp/L	Msp/S	Msd/L	Msd/S	Refer Bibli.
Jaya									
R.Gama 8 Krad						0,04			
SA 1mM						0,13			
SA+R.Gama						0,10			
IET 5656									
R.Gama 8 Krad						0,24			
SA 1mM						0,10			
SA+R.Gama						0,15			
Fujiminori									
R.Gama 8 Krad						0,01			
SA 1mM									
SA+R.Gama						0,18			
Jaya									
R.Gama 10 Krad									
SA 1mM						0,09			
SA+R.Gama						0,13			
						0,11			
IET 5656									
R.Gama 10 Krad						0,07			
SA 1mM						0,10			
SA+R.Gama						0,17			
Fujiminori									
R.Gama 10 Krad						0,01			
SA 1mM									
SA+R.Gama						0,01			
Jaya									
R.Gama 12 Krad						0,10			
SA 1mM						0,13			
SA+R.Gama						0,04			
IET 5656									
R.Gama 12 Krad						0,10			
SA 1mM						0,10			
SA+R.Gama						0,11			
Fujiminori									
R.Gama 12 Krad						0,03			
SA 1mM									
SA+R.Gama						0,01			
Taichung Native No.1									
R.Gama 20 Krad	53,0	66,3	32,5	0,66		0,53			(54)
EMS 0,33%	48,0	36,1	35,1	0,73		0,97			
R.Gama+EMS	87,0	82,5	46,4	0,53		0,56			
R.Gama 30 Krad	58,0	74,6	44,4	0,77		0,60			
EMS 0,33%	48,0	36,1	35,1	0,73		0,97			
R.Gama+EMS	93,0	88,7	56,6	0,61		0,64			

(1) Msp = Número de mutações/Número de panículas, Msd = Número de mutações/Número de plântulas M₂.

(2) Número da referência bibliográfica.

(3) DES = Dietil sulfato; EMS = Etil metano sulfonato; SA = Azida sódica.

aditividade, e dois com eficiências maiores na combinação que com mutagênicos individuais.

2.4 Indução de mutações em caracteres quantitativos.

No processo de melhoramento de espécies cultivadas a variabilidade genética, já presente dentro das populações, tem sido utilizada, bem como aquela variabilidade genética gerada por cruzamentos entre plantas de diferentes populações, variedades, etc. Entretanto, algumas vezes, os progressos obtidos tornam-se mínimos, limitados pela variabilidade presente na natureza. A possibilidade oferecida pelos agentes mutagênicos para induzir nova variabilidade genética é, portanto, de grande interesse.

Um evento mutacional é importante, mesmo quando produz um pequeno efeito em um caráter morfológico ou fisiológico, devido a alteração do balanço estabelecido pela seleção natural (blocos genético adaptativos), e, como consequência, oferecendo novas situações para a seleção natural ou artificial (SCOSSIROLI, 1970).

A indução de mutação como ferramenta para aumento da variabilidade genética de caracteres quantitativos foi pesquisada em muitas espécies. Assim, MIAH & BHATTI, (1968), trabalhando com várias variedades de arroz irradiado, observaram que, no geral, as médias das populações irradiadas para comprimento de folha e número de grãos/cm³ foram quase as mesmas que as populações controle. A variância das populações irradiadas foram maiores em comparação com os correspondentes controles. Também, reportaram um incremento na variância sem uma mudança

apreciável na média, em arroz OKA et al., (1958), MATSUO & OZONAWA (1960) e JANA & ROY (1973), entre outros. Neste último, constatou-se na geração M_2 um considerável aumento de variação para o número de perfilhos, comprimento de panículas e produção por planta, em relação às plantas não tratadas.

OJOMO & CHHEDA (1972) avaliaram a variabilidade genética induzida por raios-X e neutrons sobre a produção de grãos, número de vagens por planta e o número de dias até à floração em caupi. As médias das populações irradiadas foram semelhantes às testemunhas, enquanto que a variação genética foi muito superior nas populações irradiadas. ARAUJO (1987), trabalhando, também, em caupi, concluiu que a indução de mutação por radiação gama, demonstrou ser um meio eficiente para aumentar a variabilidade genética de caracteres quantitativos.

RAWLING et al., (1958) observaram em soja quantidades significativas de variabilidade genética, como parte dos efeitos da radiação de sementes com nêutrons térmicos e raios-X sobre a produção, altura da planta, maturação e tamanho de semente. As estimativas de variâncias genéticas nos tratamentos irradiados foram, em média, cinco vezes maiores que as observadas nas testemunhas.

Por sua vez, RUBAIHAYO (1976), também em soja, obteve mutantes para resistência à deiscência das vagens, porte baixo e precocidade. Estes mutantes, em gerações M_2 , M_3 e M_4 , demonstraram alta capacidade produtiva, sendo que um deles produziu 40 % a mais que o cultivar controle.

Também foram bem sucedidos aumentando a variância

genética de caracteres quantitativos, outros trabalhos desenvolvidos em feijão comum por Hussein & Disouky , citado por ARAÚJO (1987), SHARMA & SHARMA (1984) em lentilha, KUMAR (1977) em trigo. Entretanto, EMERY & WINNE (1976) não encontraram evidências que a irradiação tenha incrementado a resposta à seleção para rendimento sobre a geração de F₂ a F₆, em amendoim.

HUSSEIN, H.A.S. & DISOUKY, I.A.M. Mutation breeding experiments in *Phaseolus vulgaris* L. II. EMS and gamma-ray induced mutants for yield and protein quantity and quality traits. - **Egyptian Journal of Genetics and Cytology**, Egito, 8(2): 181-97, 1979.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Material

Utilizaram-se sementes dormentes recém-colhidas de arroz de sequeiro (*Oryza sativa* L.), da variedade brasileira IAC-1246. Esta variedade é importante na genealogia das variedades IAC-47 e IAC-25, que tiveram grande aceitação em todas as áreas de produção de arroz de sequeiro no Brasil, nas décadas de 70 e 80. Muitas variedades de arroz de sequeiro recomendadas atualmente têm na sua genealogia o IAC-1246 (GUIMARÃES, 1993).

3.2 Métodos

Antes de serem submetidas aos tratamentos mutagênicos, as sementes passaram por uma seleção visual, com o objetivo de se eliminar aquelas doentes, chochas e, também, as impurezas físicas. A percentagem de umidade das sementes estava em torno de 12-14%.

Como agente mutagênico físico foi utilizada a radiação-gama da fonte de ^{60}Co , do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), da Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo e como agente químico a azida sódica (NaN_3) da fabricação Merck, daqui em diante abreviada por SA. Os tratamentos com SA foram realizados no Laboratório de Radiogénética do mesmo centro.

3.2.1. Tratamento com radiação-gama

Na irradiação com raios-gama as dosagens utilizadas foram de 0, 10, 15, 20 e 30 Krad. O número de sementes em cada dosagem foi 500. As sementes foram colocadas em saquinhos de papel e dispostas na fonte ^{60}Co , de tal modo que todas as sementes foram uniformemente irradiadas. A taxa de dose foi de 139,3 Krad/hora. A irradiação foi aplicada no dia 18.12.90.

3.2.2. Tratamento com azida sódica

Para o tratamento com o mutagênico azida sódica, foi preparada previamente uma solução tampão com pH 3,0 utilizando-se como componentes o ácido cítrico e o fosfato de sódio. As concentrações de azida sódica foram 0,5, 1,0 e 5,0 mM. Para cada tratamento, 250 ml de solução (0,5 ml por semente) foi utilizada. As sementes permaneceram na solução tampão por 8 horas com agitação mecânica, a temperatura ambiente, após o qual foram lavadas em água corrente por 30 minutos, para eliminar o excesso da solução de azida sódica presente, num esforço por controlar a ação pós tratamento do mutagênico. Logo depois, as sementes foram secadas em papel de filtro por 15 minutos, com a finalidade de remover o excesso de água das sementes, e, em seguida foi efetuada a semeadura em caixas de madeira.

Foram utilizados dois tratamentos testemunha, um com água destilada a um pH aproximado de 7 e outro com pH 3,0, este último para descartar a possível influência mutagênica do pH utilizado na aplicação da azida sódica.

3.2.3. Tratamento combinado de raios-gama e azida sódica.

No caso de tratamentos associados, seguiram-se os mesmos procedimentos dos tratamentos individuais, sendo que a radiação-gama foi aplicada primeiro e, em seguida, a azida sódica.

O esquema abaixo mostra o modo de aplicação dos vários tratamentos.

ESQUEMA DO PROCESSO DE APLICAÇÃO DOS MUTAGÊNICOS

Tratamentos		Atividade			
Radiação ou Não Rad.	Agitação em soluc. com a. sódica, pH 3,0 ou água pH 7	Lavado	Secado	Semeadura	
	Tempo: 8 horas	30 min	15 min	30 min	

As dosagens ou concentrações que constituíram os tratamentos foram:

Número e Tratamento.

1	Testemunha (água destilada)
2	10 Krad (raios-gama) (água destilada)
3	15 Krad (raios-gama) (água destilada)
4	20 Krad (raios-gama) (água destilada)
5	30 Krad (raios-gama) (água destilada)
6	Testemunha (pH 3,0)
7	15 Krad (raios-gama) (pH 3,0)
8	30 Krad (raios-gama) (pH 3,0)
9	0,5 mM de SA (pH 3,0)
10	10 Krad (raios-gama) e 0,5 mM de SA (pH 3,0)
11	20 Krad (raios-gama) e 0,5 mM de SA (pH 3,0)
12	1,0 mM de SA (pH 3,0)
13	10 Krad (raios-gama) e 1,0 mM de SA (pH 3,0)
14	15 Krad (raios-gama) e 1,0 mM de SA (pH 3,0)
15	20 Krad (raios-gama) e 1,0 mM de SA (pH 3,0)
16	30 Krad (raios-gama) e 1,0 mM de SA (pH 3,0)
17	5,0 mM de SA (pH 3,0)
18	15 Krad (raios-gama) e 5,0 mM de SA (pH 3,0)
19	30 Krad (raios-gama) e 5,0 mM de SA (pH 3,0)

A combinação fatorial dos mutagênicos empregados proporciona uma tabela, mostrada a seguir, com fins de ilustração. Esta tabela é incompleta, devido a uma simplificação realizada, visando tornar manejável o experimento, nas condições da área disponível.

Combinação fatorial de tratamentos de raios gama e azida sódica.

Raios gama (Krad)	a z i d a s ó d i c a (mM)				
	0 (pH7)	0 (pH3)	0,5 (pH3)	1,0 (pH3)	5,0 (pH3)
0	T1	T6	T9	T12	T17
10	T2	-*	T10	T13	-
15	T3	T7	-	T14	T18
20	T4	-	T11	T15	-
30	T5	T8	-	T16	T19

(*) Não observado

As dosagens e concentrações empregadas no presente experimento, assim como o tempo de imersão na AS e outros detalhes metodológicos, foram baseados em RAO (1973), RAO & RAO (1983), GUIMARÃES (1978), REDDI & RAO (1988) e REDDI & SUNEETA (1992).

3.2.4. Obtenção de dados experimentais

As sementes tratadas M_1 foram semeadas em 18.12.90 em uma caixa de madeira para cada tratamento e permaneceram 30 dias em casa de vegetação do Departamento de Genética, com o intuito de dar-lhes melhores condições de sobrevivência às plântulas. Após esse período, foram transplantadas com um espaçamento de 15 cm entre plantas e 80cm entre linhas, no campo experimental do Departamento de Genética, onde se desenvolveram em condições de secano, com irrigação suplementar, quando necessário. Na colheita,

31.03.91, as três panículas mais altas de cada planta M_1 , segundo recomendação de ANDO (1970), foram colhidas, com a finalidade de se avaliar as mutações e os mutantes de clorofila em plântulas M_2 , em casa de vegetação, durante o período do 18.09.91 ao 10.03.92.

Baseado nos próprios resultados iniciais e nas limitações de área experimental foram escolhidos para a avaliação de caracteres agronômicos na geração M_2 os seguintes tratamentos:

T_1 = Testemunha pH 7

T_2 = 10 Krad

T_4 = 20 Krad

T_6 = Testemunha pH 3

T_9 = 0,5 mM de SA

T_{10} = 10 Krad e 0,5 mM de SA

T_{11} = 20 Krad e 0,5 mM de SA.

Uma amostra de 3 sementes M_2 , tomada ao acaso, de cada uma das panículas M_1 dos tratamentos escolhidos, foi constituída. Sobre esta amostra inicial por tratamento, foram feitos ainda outras amostragens para se adequar o tamanho do experimento á disponibilidade de área. Na primeira amostragem, 500 sementes por repetição foram semeadas em caixas de madeira. Trinta dias após uma média de 343 plântulas, foram transplantadas com um espaçamento de 10 cm entre plantas e 50 cm entre linhas, tendo-se realizada as avaliações em uma amostra de 170 plantas, escolhidas ao acaso, por cada repetição.

As plantas se desenvolveram em condições de secano, tendo sido irrigadas eventualmente quando necessário. Foram semeadas no perímetro da área experimental, quatro linhas de uma variedade de arroz japonesa precoce, com a finalidade de bordadura e uma forma de proteção do ataque pássaros. Mesmo assim, foi utilizado o serviço de uma pessoa encarregada do cuidado contra o ataque de pássaros no cultivo da geração M_1 e M_2 . A colheita foi realizada entre os dias 20 e 30.03.92.

Foram avaliadas as seguintes características quantitativas:

a) Sobrevivência de plântulas aos 14 dias.

Foi registrado o número de plântulas sobreviventes 14 dias após a semeadura.

b) Altura de plântulas M_1 .

A altura de plântulas M_1 foi protocolada 14 dias depois da semeadura, sendo feita a medida desde a superfície do solo até a extremidade superior da folha maior. Foram medidas 40 plantas, tomadas ao acaso, para cada tratamento.

c) Sobrevivência de plantas M_1 à maturidade.

A sobrevivência à maturidade foi avaliada com base no número de plantas sobreviventes no campo experimental na época da colheita, em relação ao total transplantadas.

d) Fertilidade de Plantas M_1 .

Para a avaliação da fertilidade de plantas M_1 foi

tomada uma amostra aleatória de 50 plantas por tratamento. Das três panículas M_1 colhidas por planta, foi tomada, ao acaso, uma panícula para contagem de grãos cheios e chôchos.

e) Frequência e espectro de mutação de clorofila.

Todas as panículas M_1 foram semeadas separadamente, sem debulha, em canteiros de areia na estufa, com a finalidade de se avaliar a frequência e espectro de mutação de clorofila. As frequências de mutação de clorofila foram determinadas, para cada tratamento, considerando-se as seguintes proporções:

- 1) Mutações ao nível de panículas (M_{sp}): número total de mutações de clorofila / número total de panículas M_1 .
- 2) Mutações ao nível de plântula M_2 (M_{sd}): número total de mutações de clorofila / número total de plântulas M_2 .
- 3) Mutantes ao nível de plântulas M_2 (M_{tsd}): número total de mutantes de clorofila M_2 / número total de plântulas M_2 .

Para a avaliação do espectro de mutações, as mutações de clorofila foram classificadas em:

- 1-Albina: ausência de pigmentos amarelos ou verdes
- 2-Viridis: pigmento verde-claro distribuído uniformemente
- 3-Xantha: pigmentos amarelos distribuídos uniformemente
- 4-Tigerina: distribuição de pigmentos amarelos e verdes transversalmente.
- 5-Estriata: distribuição longitudinal de pigmentos amarelos ou verdes.
- 6-Outras: mutações de clorofila que não encaixam em classes

acima mencionadas.

A eficiência mutagênica foi avaliada pelas seguintes fórmulas definidas em 2.2, embora adaptadas para o caso:

Msp/I, Msp/L₁, Msp/L₂, Msp/S, Msd/I, Msd/L₁, Msd/L₂, Msd/S, Mtsd/I, Mtsd/L₁, Mtsd/L₂ e Mtsd/S

Onde:

L₁ : letalidade de plântulas M₁ aos 14 dias

L₂ : letalidade de plantas M₁ à maturidade.

S : % de redução de fertilidade definida no item 2.2

I : % de redução da altura de plântulas M₁

f) Comprimento do colmo das plantas M₂ (CC)

Foi avaliado em centímetros, usando uma régua, desde o solo, junto à base da planta, sendo medido o comprimento a partir da base até o último nó do colmo. Protocolado uma semana antes da colheita.

g) Número de dias até o início do florescimento das plantas M₂ (DIF)

Foi protocolado o dia em que uma planta M₂, de um determinado tratamento, apresentou a primeira flor aberta, (antese).

h) Número de perfilhos (NP)

Foi efetuada a contagem de número de perfilhos férteis (aquelas com pelo menos um grão cheio) de todas as plantas dos tratamentos na M₂.

3.2.5. Análise estatística

3.2.5.1. Teste de Z

O teste de Z foi aplicado para detectar diferenças entre pares de tratamentos, para características com dados categóricos. Este teste é útil quando não se tem informação de repetições, sendo este o caso dos dados mencionados, os quais foram determinados de um só conjunto de dados. De acordo com a recomendação de FREEMAN (1987), foi feita uma transformação logarítmica para melhorar a normalidade dos dados, ficando a fórmula de Z como mostrado a seguir, exemplificando para o caso de mutações ao nível de panícula (Msp).

$$Z(1,2) = [(\text{Log}(\text{Msp1}) - \text{Log}(\text{Msp2})) / [(1/\text{N.Mut.1}) + (1/\text{N.Mut.2})]^{1/2}$$

Onde:

$Z(1,2)$ = Z entre os tratamentos 1 e 2

N.Mut.1 e N.Mut.2 = Número de mutações do tratamentos 1 e 2, respectivamente.

Msp1 e Msp2 = Número de mutações por 100 panículas M1 dos tratamentos 1 e 2, respectivamente.

3.2.5.2. Teste de χ^2

O teste χ^2 aplicado, segundo PIMENTEL GOMES (1987), foi realizado para analisar a homogeneidade do espectro de mutações e, também, no teste do efeito aditivo dos mutagênicos em combinação. Neste último caso, o número esperado foi calculado somando-se os efeitos (proporcionais) dos tratamentos individuais.

3.2.5.3. Avaliação da variabilidade fenotípica induzida nas plantas da geração M_2 .

Os sete tratamentos avaliados, listados em 3.2.4. foram plantados em blocos ao acaso com 3 repetições. A parcela experimental foi constituída de uma fileira de 30 m de comprimento com um espaçamento de 10 cm entre plantas e 50 cm entre linhas.

A análise de variância para cada caracter na geração M_2 realizou-se seguindo o modelo:

$$Y_{ij} = m + D_i = B_j + e_{ij} , \text{ em que}$$

Y_{ij} : O valor observado do i -ésimo tratamento na j -ésima repetição;

m : média geral;

D_i : efeito do i -ésimo tratamento mutagênico individual ou combinado, sendo $i = 1, 2, \dots, 7$.

B_j : efeito da j -ésima repetição, sendo $j = 1, 2$ e 3 ;

e_{ij} : erro associado à ij -ésima observação.

O esquema da análise de variância foi:

Tabela 5. Esquema de análise de variância para cada caráter quantitativo na geração M_2

Fontes de variação	G.L.	QM	E (QM)	F
Repetições	$r-1$			
Tratamentos	$t-1$	M_1	$V + rV_p$	M_1/M_2
Resíduo	$(r-1)(t-1)$	M_2	V	

(*) Considerando o efeito de repetições como aleatório e tratamento como fixo.

Onde V = variância residual

V_p = variância entre tratamentos

r = número de repetições.

Estimaram-se média, desvio padrão, variância, coeficiente de variação (CV). Usando-se os coeficientes de variação das populações com tratamentos mutagênicos (CVT) e da testemunha sem tratamento (CVñT) estimou-se o coeficiente de variação relativo (CVT/CVñT) proposto por MORSI et al., (1977) que fornece uma estimativa da variação induzida pelo tratamento mutagênico.

Com este mesmo objetivo realizou-se um análise de variância para cada tratamento da maneira usual. A significancia do incremento na variância genética atribuível ao tratamento mutagênico foi determinada pelo teste "F" (RAWLINGS et al., (1958) e JOSHI & FREY (1967)).

$$"F" = \frac{\text{Variância entre plantas do tratamento mutagênico}}{\text{Variância entre plantas do tratamento controle}}$$

A diferença das variâncias residuais dos tratamentos e do controle, segundo ANDO & VENCOSKY (1967), fornece uma estimativa do incremento da variância devido ao tratamento mutagênico; por esse motivo foram calculados, também, essas diferenças, cuja fórmula com a nomenclatura adaptada para o caso é:

$$St^2 = Vro - Vrt$$

onde:

St^2 = incremento da variância devido ao tratamento mutagênico.

Vro = variância residual do controle

Vrt = variância residual do tratamento mutagênico.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sendo a eficiência mutagênica uma relação entre um fator de mutação e um fator de dano, primeiramente serão abordados em separado, cada uma das características que envolvem esses fatores.

4.1. Avaliações dos danos

Os resultados dos efeitos danosos dos tratamentos mutagênicos utilizados sobre a altura de plântulas M_1 , sobrevivência aos 14 dias, fertilidade e sobrevivência à maturidade na geração M_1 são mostrados nas Tabelas 6 e 7. Algumas considerações sobre o desempenho da testemunha e a amostragem dos dados serão abordadas a seguir.

Tabela 6. Efeito do tratamento com raios-gama e azida só-dica sobre a altura de plântula M_1 , sobrevivência aos 14 dias, sobrevivência à maturidade e fertilidade em arroz.

Tratamento*	Altura de plânt. cm	Sobrev. à 14 dias T=100 %	Sobrev. à Matur. T=100 %	Fertilidade T=100 %
1	24,2	100,0	93,6	100,0
2	20,8	86,0	91,0	75,6
3	24,9	102,7	85,7	49,0
4	22,3	92,1	66,8	46,9
5	18,0	74,2	63,4	26,4
6	23,0	94,9	92,9	99,8
7	23,5	96,8	80,3	49,1
8	16,7	68,9	75,4	21,0
9	20,6	85,0	82,5	93,2
10	20,0	80,8	77,6	71,1
11	16,6	68,5	71,7	39,7
12	10,2	42,1	75,9	69,1
13	17,5	72,1	73,3	50,0
14	10,3	42,5	69,2	27,7
15	11,1	45,8	62,2	40,4
16	3,5	14,4	42,3	12,5
17	5,6	23,1	59,7	24,8
18	4,8	19,9	57,2	10,8
19	2,6	10,6	25,2	0,7

T=testemunha

* Os tratamentos estão descritos no item 3.2.3.

Tabela 7. Efeito do tratamento combinado de raios-gama e azida sódica sobre a redução da altura (I), letalidade aos 14 dias (L_1), letalidade à maturidade (L_2) e esterilidade (S), em porcentagem com relação à testemunha, em arroz

Tratamento*	I	L_1	L_2	S
1	0,0	0,0	0,0	0,0
2	14,0	6,8	2,8	24,4
3	-2,7	5,7	8,4	51,0
4	7,9	13,1	28,6	53,1
5	25,8	7,9	32,2	73,6
6	5,1	5,7	0,7	0,2
7	3,2	9,4	14,2	50,1
8	31,1	13,1	19,4	79,0
9	15,0	12,7	11,8	6,8
10	19,2	17,3	17,1	28,9
11	31,5	12,0	23,3	60,2
12	57,9	33,4	18,9	30,9
13	27,9	16,8	21,6	50,0
14	57,5	15,3	26,0	72,3
15	54,2	27,3	33,6	59,6
16	85,6	36,5	54,8	87,5
17	76,9	56,3	36,2	75,2
18	80,1	68,6	38,9	89,2
19	89,4	87,6	73,1	99,3

*Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.

Em termos gerais, os valores de altura de plântula, porcentagem de fertilidade e sobrevivência da testemunha podem ser considerados normais, indicando que as sementes estavam em bom estado e que os efeitos dos mutagênicos estão livres de qualquer interação indesejada com o desempenho da testemunha.

A respeito do tamanho das amostras de onde foram calculados os valores dos danos (Tabela 8), observa-se que os tamanhos totais das amostras variam amplamente, sendo o menor em altura de plântula e o maior em plântulas M_2 . Estas variações são influenciadas pelas possibilidades práticas de sua medição. Assim, a fertilidade pode ser avaliada em amostras maiores, porque pode ser avaliada por

partes, não acontecendo o mesmo com a altura de plântula que tem que ser avaliada totalmente no mesmo dia.

As variações de tamanho de amostra dentro de cada tratamento são devidas principalmente à influência dos tratamentos. Assim tratamentos com as maiores dosagens ou concentrações diminuem o tamanho da amostra como no caso de grãos por panícula, de onde são tiradas as informações de fertilidade.

Todas estas considerações foram feitas com o intuito de reconhecer a existência dessas limitações.

Tabela 8. Tamanho da amostra para a avaliação dos efeitos de tratamentos com raios-gama e azida sódica.

Trata- mento.	Altura	Sobrev. (14 d)	Sobrev. (mat.)	Fertilidade**	Plântulas	Panículas
	N.Plântulas	N.Sementes	N. Transp.	N.Sementes	M ₂	M ₁
1	40	500	342	13.333	52.133	753
2	40	500	389	6.482	71.443	950
3	40	500	399	6.002	48.325	957
4	40	500	389	6.255	34.559	682
5	40	500	372	5.750	22.503	599
6	40	500	354	11.820	58.911	713
7	40	500	376	6.118	46.215	790
8	40	500	386	6.889	23.030	626
9	40	500	303	12.984	32.149	399
10	40	500	344	5.862	44.083	486
11	40	500	322	6.714	30.905	486
12	40	500	348	13.725	35.805	667
13	40	500	300	6.308	28.307	447
14	40	500	380	7.117	23.763	674
15	40	500	386	4.370	23.399	653
16	40	500	246	4.488	3.479	224
17	40	500	320	14.509	14.936	480
18	40	500	341	5.499	7.998	442
19	40	500	234	4.623	767	81
Totais	760	9.500	6.531	148.838	602.335	11.109
Desvio.Padrão	0	0	47,3	3.454,3	18.722	220,9

* Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.

** Em plantas M₁

Os efeitos dos tratamentos sobre cada um dos danos avaliados são apreciados com a ajuda de Figuras feitas a partir de tabelas fatoriais, com as dosagens de raios-gama por um lado e as concentrações de azida sódica por outro. Também possuem-se tabelas de significância do teste de Z entre pares de médias de tratamentos.

4.1.1. Altura de plântulas M_1

A Figura 1 (a) tem as informações acerca desta característica e a análise da mesma merece os seguintes comentários:

1) As dosagens de raios-gama não afetaram substancialmente a altura de plântula, diferente da azida sódica cujo efeito foi notável e, particulamente drástico na concentração de 5 mM.

2) A combinação dos mutagênicos em questão, sempre resultou em prejuízo da altura por um aumento do dano. Todavia, para ambos mutagênicos, as baixas dosagens pareceram não aumentar muito os danos na combinação. Assim 10 Krad tem um desempenho semelhante quando associado com 0,5 e 1,0 mM de SA, desconhecendo-se o comportamento quando combinado com concentrações maiores que 1 e menores que 5 mM. Por sua vez 0,5 mM de SA tem um desempenho bom e semelhante quando combinado com 10, 15 e 20 Krad, não se tendo observado quando combinado com maiores dosagens de raios-gama. O tratamento de 5 mM de SA tem um efeito muito severo sobre a altura de plântula, mesmo quando aplicado individualmente, aumentando o efeito prejudicial quando combinado. Pelo contrário, a dosagem 30 Krad não tem um efeito severo sobre

Figura 1. Altura de plântulas (a) e letalidade aos 14 dias (b) na combinação de tratamentos de raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial do item 3.2.3

a altura quando aplicado individualmente; já, combinado com 1 e 5 mM de SA ocasiona grandes prejuízos.

4.1.2. Sobrevivência de plantas M_1 aos 14 dias

Da Figura 1 (b) e Tabela 20 (apêndice), que contêm as informações sobre sobrevivência aos 14 dias, podem ser feitas as seguintes considerações:

- 1) As dosagens de radiação gama quando aplicadas individualmente não afetaram significativamente a sobrevivência aos 14 dias diferente das concentrações de SA que afetaram significativamente com valores de 1 e 5 mM.
- 2) Não existem diferenças significativas entre os tratamentos pH 7 e pH 3, portanto, os pH utilizados não afetaram a sobrevivência de plântulas M_1 aos 14 dias. Por essa razão e no intuito de simplificar a figura 1 (b), só foi considerado o tratamento pH 7 como a testemunha.
- 3) As dosagens de raios-gama (10 15 e 20 Krad) não afetaram significativamente a sobrevivência aos 14 dias quando combinados com os tratamentos de 0,5 e 1 mM de SA. Todavia, 20 Krad combinado com 5mM afetou drasticamente a sobrevivência aos 14 dias, reduzindo para 12,4% em relação com a testemunha.
- 4) A concentração de 5 mM de SA teve efeitos drásticos sobre a sobrevivência aos 14 dias, em tratamento individual, aumentando os efeitos quando combinados com raios-gama. A dose de 30 Krad não afetou significativamente a sobrevivência aos 14 dias, quando aplicada

individualmente, já combinada com a concentração de 1mM de SA, seu efeito danoso foi aparente, e drástico quando associada com 5mM de SA.

5) A concentração de 1mM de SA pareceu não ser afetada com a combinação com 10, 15 e 30 Krad de raios-gama.

4.1.3. Sobrevivência de plantas M_1 à maturidade

Da Figura 2 (a) que mostra os dados da sobrevivência de plantas M_1 à maturidade, e a partir da Tabela 21 (apêndice) podem ser feitos os seguintes comentários:

- 1) As concentrações de 0,5 e 1 mM de SA, não afetaram significativamente a sobrevivência à maturidade, já a de 5mM teve um efeito significativo.
- 2) Dosagens de raios-gama acima ou igual a 20 Krad afetaram significativamente a sobrevivência.
- 3) As concentrações de 0,5 e 1mM de SA, em tratamentos individuais, reduziram a sobrevivência à maturidade em 20% aproximadamente o que equivaleria ao efeito obtido com 20 e 30 Krad.
- 4) A concentração de 5mM de SA, em tratamento individual, reduz a sobrevivência à maturidade em 36%, dano bem inferior aos ocasionados em altura de plântula, sobrevivência aos 14 dias e fertilidade. Situação similar aconteceu com a dosagem de 30 Krad de raios-gama, que foi ainda menos prejudicial para a sobrevivência à maturidade.

Figura 2. Sobrevivência à maturidade (a) e fertilidade em panículas M₁ (b) no tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.

5) Em tratamentos individuais de 30 Krad de raios-gama e 5mM de SA, diferente de outros danos, não afetaram a sobrevivência à maturidade em mais de 40%. Todavia ambos tratamentos, quando combinados, ocasionaram um efeito drástico.

6) Os tratamentos combinados não mostraram diferenças estatísticas, com exceção da combinação de 1 e 5mM de SA com 30 Krad de raios-gama.

7) As concentrações utilizadas de SA, quando combinadas com varias dosagens de raios-gama, não mostraram afeitos significativos, com exceção da combinação com 30 Krad.

4.1.4. Fertilidade de panículas M_1

Da Figura 2 (b) e Tabela 22 (apêndice) podem ser feitos os seguintes comentários:

1) Os tratamentos utilizados de raios-gama e SA afetaram sensivelmente a fertilidade de plantas M_1 . Em termos médios, a inclinação da curva dos efeitos dos raios-gama, quando aplicados individualmente, tem uma pendente maior que a equivalente ao tratamento individual de SA, entretanto não acusaram diferenças significativas na dosagem 30 Krad e a concentração de 5 mM.

2) As testemunhas pH 7 e pH 3 não foram diferentes, por isso, somente o tratamento pH 7 foi considerado como testemunha.

3) Doses individuais de raios-gama superiores ou iguais a 15 Krad levaram a perdas maiores que 50% de fertilidade.

Concentrações de SA superiores a 1mM causaram perdas maiores que 40%.

4) A concentração de 1mM permitiu combinar até com 10 Krad, sem ocasionar perda maior que 50% na fertilidade.

5) Tratamentos combinados de dosagens maiores que 10 Krad de raios-gama e/ou 1 mM de SA ocasionaram perdas superiores a 50% na fertilidade.

6) Tanto a dosagem de 30 Krad de raios-gama como a concentração de 5 mM de SA afetaram igualmente a fertilidade.

Segundo GAUL (1977), os mutagênicos físicos e químicos ocasionam 3 tipos de efeitos que são de especial interesse em Genética e Melhoramento de plantas:

- (1) Dano fisiológico (dano primário)
- (2) Fator de mutações (mutações de ponto)
- (3) Mutações cromossômicas (aberrações)

As mutações e as aberrações cromossômicas podem ser transferidos da M_1 para outras gerações e podem ser observados a partir da M_2 . Os danos fisiológicos estão restritos à primeira geração.

Os danos nas plantas da geração M_1 podem ser medidos quantitativamente, ainda segundo GAUL (1977), em vários caracteres tais como:

- (1) Altura de plântula
- (2) Comprimento da raiz
- (3) Emergência ou germinação
- (4) Sobrevivência no campo ou no laboratório
- (5) Número de inflorescências por planta

- (6) Número de espiguetas por inflorescência
- (7) Número de sementes por inflorescência
- (8) Frutos ou sementes por plantas.

Segundo Sparrow citado por GAUL (1977), o retardamento no crescimento e a mortalidade são os mais importantes dos danos fisiológicos na geração M_1 . A sobrevivência de plantas M_1 é um dos fatores que, na prática limita o uso de altas dosagens ou concentrações na aplicação de mutagênicos. No presente trabalho o tratamento 19 (30 Krad + 5,0 mM de SA) teve uma alta letalidade, por uma sobre-aditividade dos danos (Figura 2 (b)), diminuindo muito o número de plantas M_1 e, com isso, as possibilidades de detectar mutantes na M_2 , por problemas de amostragem. Neste tratamento (19) aconteceu uma multiplicação dos danos, devido a uma sobre-aditividade dos efeitos de combinação.

Todavia a sobrevivência à maturidade (L2) observado para 30 Krad (32%) foi baixo comparado aos verificados por SIDDIQ & SWAMINATHAN (1968) nas variedades de arroz Taichinhg Native 1 (58%) e Taichung 65 (82%). É sabido que a radiosensitividade a mutagênicos é genótipo-dependente, além de outros fatores, e a dose 30 Krad parece seguir muito esta regra. Quanto ao L2 do tratamento 19 não se têm outro experimento em arroz para comparar, todavia DOLL & SANDFAER (1969) aplicando uma combinação de 24 Krad com DES ou EMS verificaram resultados ainda mais drásticos que neste trabalho.

SPARROW, A.H. Comparisons of the tolerances of higher plant species to acute and chronic exposures of ionizing radiation. Japanese Journal of Genetics (Suppl.) 40:12-37, 1965.

Das considerações anotadas percebe-se que a combinação do tratamento 19 teve efeitos muito pronunciados sobre a sobrevivência à maturidade, tornando-o pouco recomendável.

Por outro lado a sobrevivência ao nível de plântula parece não acompanhar os resultados à maturidade como o acontecido com GUIMARÃES (1978) que obteve uma sobrevivência de 90,7% para 32 Krad e em geral baixa letalidade em plântulas de 14 dias.

Com referência a altura de plântula, foi evidente que os tratamentos com SA superiores a 1,0 mM ocasionaram danos maiores que aqueles de raios-gama e que os tratamentos combinados, foram ainda mais severos. Todavia, é bom salientar que a redução da altura da plântula não leva necessariamente à morte, no decorrer do desenvolvimento. De tal modo, houve, em vários casos, uma recuperação no crescimento da planta, atingindo o florescimento e maturidade. No presente trabalho, só no tratamento 19 não se deu tal recuperação.

Os resultados da redução da altura de plântula deste trabalho foram similares aos obtidos por GUIMARÃES & ANDO (1980) quanto à aplicação de raios-gama. O efeito estimulante observado na dosagem 15 Krad também foi observado por STEAGALL (1977), que constatou altura de plântulas, em alguns tratamentos, superior ao controle.

Quanto aos resultados da sobrevivência aos 14 dias, acompanhou em termos gerais aos verificados na maturidade.

Quando a letalidade não é limitante a esterilidade, pode ser um limite prático para o incremento da dose. Assim

Muller, citado por GAUL (1977) concluiu que no tratamento com EMS o incremento da frequência de mutações é dificultado pela esterilidade e não pela letalidade das plantas M_1 .

Neste trabalho a fertilidade foi a característica mais sensível aos tratamentos mutagênicos, constituindo-se numa barreira para uso de altas dosagens ou concentrações dos mutagênicos nos tratamentos individuais e em maior medida nos combinados. Os resultados da esterilidade, ocasionada pelos raios-gama são semelhantes aos obtidos por MIKAELSEN et al. (1968), e, na sua maior parte, com SIDDIQ & SWAMINATHAN (1968); todavia, GUIMARÃES & ANDO (1980) obtiveram valores um pouco inferiores e MIKAELSEN & KISS (1971) ainda menores. A esterilidade produzida pela SA foi similar aos resultados de GUIMARÃES & ANDO (1980).

A esterilidade ocasionada pelos raios-gama é assumida como derivada principalmente de aberrações cromossômicas, geralmente translocações; todavia, segundo GAUL (1977) as pequenas deficiências desempenham um papel importante.

A causa da esterilidade produzido pelos mutagênicos químicos é pouco conhecida, GAUL(1977), baseado em observações em EMS, acredita que é de origem genética portanto transmissível às futuras gerações, sendo que, plantas estéreis ou parcialmente estéreis podem-se originar de plantas férteis em avançadas gerações.

MÜLLER, A.J. Die induktion von rezessiven lethalmutationen durch athylmethansulfonat bei arabidopsis I. Dosis-effekt-beziehungen und deren beeinflussung durch die behandlungsbedingungen. Züchter 36: 201-20, 1966.

Fazendo-se um resumo dos danos fisiológicos observados, pode-se afirmar que os tratamentos combinados de raios-gama e SA afetaram principalmente a altura de plântula, ficando em segundo lugar a esterilidade; entretanto, a combinação esterilidade-letalidade constituíram os principais fatores limitantes para o uso de altas dosagens ou concentrações nos tratamentos combinados.

4.2. Avaliações do fator de mutações

4.2.1. Mutações ao nível de panículas M_1 (Msp)

Da observação da Figura 3 (a) e Tabela 23 (apêndice) que contém as informações de Msp, podem-se destacar os seguintes itens:

- 1) Os valores de Msp das dosagens de SA foram bem maiores que os de raios-gama. O máximo valor de Msp para SA foi obtido com a concentração de 1mM, diminuindo com 5mM. Todavia, é bom esclarecer que não se pode afirmar, necessariamente que em 1mM está o ponto de inflexão da curva, posto que não foram utilizadas as concentrações intermediárias entre 1 e 5mM.
- 2) As concentrações de 1 e 5 mM de SA, quando combinadas com 10, 15 e 20 Krad de raios-gama produziram uma queda no Msp, permanecendo mais ou menos estável quando combinado com 30 Krad de raios-gama. Já, na dosagem de 0,5 mM de SA, que respondeu com um valor baixo de Msp (embora maior aos de raios-gama), rapidamente perdeu o seu valor quando associada, permanecendo aproximadamente no mesmo patamar ao combinar-se com 10 , 15 e 20 Krad.

3) As dosagens de raios-gama quando associadas com SA, em termos gerais, causaram um incremento em Msp; entretanto, sofreram uma redução no valor em Msp se comparados com os resultados obtidos pelos tratamentos individuais.

4) O Msp da dosagem individual de raios-gama foi relativamente pequena, não apresentando diferença significativa entre estes valores.

5) Os valores mais altos de Msp foram de 7,26 para 10 Krad em raios-gama , 60,62 para 5 mM de SA e 29,08 para a combinação de 10 Krad + 1mM.

4.2.2. Mutações ao nível de plântulas M_2 (Msd)

Do estudo da Figura 3 (b) e Tabela 24 (apêndice) podem-se fazer as seguintes observações:

1) Os tratamentos com SA produziram Msd bem maiores que os resultantes das dosagens de raios-gama, atingindo uma diferença de até 12,53 vezes entre os maiores Msd de ambos os mutagênicos.

2) Os Msd das dosagens de raios-gama foram baixos e não atingiram diferenças significativas entre eles. O Msd da concentração de 0,5 mM de SA foi baixa, comparado com os resultados de outras concentrações de SA; mesmo assim, eles foram diferentes dos Msd obtidos por raios-gama.

(a) Mutações de clorofila ao nível de panículas M1

(b) Mutações de clorofila ao nível de plântulas M2

Figura 3. Frequência de mutações de clorofila ao nível de panículas (Msp) (a) e ao nível de plântulas M₂ (Msd) (b) nos tratamentos de raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3

3) Os valores mais altos de Msd foram de 0,1555 para 30 Krad em raios-gama , 1,9483 para 5 mM de SA e 1,5004 para a combinação 15 Krad + 5mM.

4.2.3. Mutantes ao nível de plântulas M₂ (Mtsd)

Da Figura 4 e Tabela 25 (apêndice) que contêm as informações de Mtsd, podem ser feitas as seguintes observações:

1) O desempenho dos raios-gama foi muito inferior em comparação com SA. Quanto às diferenças estatísticas observadas entre as dosagens de cada um dos mutagênicos, foi verificado que as concentrações de SA são diferentes entre si nos seus efeitos, enquanto que em raios-gama o comportamento entre os efeitos das dosagens também foram similares. Entretanto, 20 e 30 Krad não diferiram ao nível de 5% de probabilidade.

2) Com referência aos efeitos dos raios-gama, quando combinados com SA, aumentaram seus valores de Mtsd, com exceção da dose máxima, de 30 Krad, que só foi beneficiada quando associada com 0,5 e 1,0 mM de SA. As concentrações de SA, ao se combinarem com raios-gama tiveram resultados um tanto particulares para cada uma delas. A concentração de 0,5 mM cresce progressivamente quando combinado com 10, 15 e 20 Krad, embora com baixo coeficiente angular; 1,0 mM decai ligeiramente com 10 e 15 Krad e sobe de forma acentuada ao se combinar com 30 Krad; 5 mM é estável quando combinado com 15 Krad para decrescer ao se combinar com 30 Krad.

Frequência de mutantes ao nível de plântulas M2 (Mtsd)

Figura 4. Frequência de mutantes de clorofila ao nível de plântulas M2 (Mtsd) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.

3) Os valores mais altos de Mtsd foram de 0,8177 para 30 Krad de raios-gama , 5,1352 para 5 mM de SA e 5,4889 para a combinação 15 Krad + 5mM.

Fazendo-se um resumo dos maiores valores para os índice que compõem o fator de mutações, tem-se a relação seguinte:

<u>Fator de Mutações</u>	<u>Tratam.</u>	<u>Dose ou Conc.</u>	<u>Valor</u>
Msp	T2	10 Krad	7,26
	T17	5,0 mM	60,62
	T13	10 Krad+1 mM	29,08
Msd	T5	30 Krad	0,1555
	T17	5,0 mM	1,9483
	T18	15 Krad+5 mM	1,5004
Mtsd	T5	30 Krad	0,8177
	T17	5,0 mM	5,1352
	T18	15 Krad+5 mM	5,4889

Pode-se observar que os valores do fator de mutações da SA são sempre bem maiores que aqueles correspondentes aos raios-gama (no mínimo acima de oito vezes). A combinação de mutagênicos, no melhor dos casos, leva ao decréscimo de Msp e Msd, e a um aumento de Mtsd.

Os resultados em Msp obtidos no presente trabalho, são similares, quanto ao desempenho dos raios gama com MIKAELSEN et al., (1968) e RAO e RAO (1983); contudo, menos similares aos de GUIMARÃES & ANDO (1980), e maiores aos conseguidos por REDDI & RAO (1988). Com referência aos valores Msp da SA, são semelhantes aos obtidos por RAO & RAO (1983), entretanto com valores para 1 mM. Também, os dados de GUIMARÃES & ANDO (1980) não coincidem com os Msp de 1 e 5 mM de SA obtidos. Eles observaram Msp bem maiores de 1mM sobre 5 mM, enquanto que no presente trabalho os Msp de 1 e 5 mM foram altos e semelhantes.

Os Msd com raios-gama são geralmente inferiores aos obtidos em outros trabalhos em arroz de acordo com MIKAELSEN et al. (1971), MIKAELSEN et al. (1968), RAO & RAO (1983) e REDDI & RAO (1988). É um dos eventos que aparecem neste intrincado assunto da mutação induzida. Como exemplo, GUIMARÃES & ANDO (1980) não encontraram uma redução na sobrevivência e na altura de plântula com o aumento de dosagens de raios-gama, contrariando numerosos trabalhos por eles citados. Os Msd da SA, tampouco são congruentes com os observados por RAO & RAO (1983) em três variedades de arroz, sendo os observados bem inferiores. Contudo não existe uma constância clara do desempenho de diferentes concentrações em REDDI & RAO (1988), variando muito nos diferentes genótipos utilizados.

Outros mutagênicos como HA, NMU, MMU em arroz atingiram Msd mais comparáveis com os resultados do presente trabalho (RAO & RAO (1983)).

Em relação a Mtsd, pouco encontrado na literatura, tem-se para comparar GUIMARÃES & ANDO (1980) que verificaram valores algo semelhantes aos obtidos aqui, trabalhando com arroz. Todavia, em cevada AASTVEIT (1967) observou Mtsd mais semelhante.

4.3. Avaliação da eficiência mutagênica

4.3.1. Msp/I e Msp (1-I/100)

A Figura 5 (a), originada a partir dos dados do Msp/I e a Tabela 26 do apêndice dos diferentes tratamentos, resulta difícil de interpretar. As fórmulas de KONZAK et al. (1965)

Figura 5. Eficiência mutagênica Msp/I e $Msp(1-I/100)$ nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.

aplicadas para o cálculo da eficiência mutagênica, consideram que os mutagênicos sempre causam um dano, portanto a porcentagem de danos (neste caso I) será sempre positiva. Todavia, o fenômeno de estimulação de baixas dosagens de raios-gama, embora não aceito por todos os especialistas, muitas vezes acontece, levando a situações de ter um I negativo e, com isso, um valor de eficiência negativo, o que torna-se sem interpretação.

Assim, observando-se especificamente a Figura 5 (a), o ponto mais alto corresponde a Msp/I do tratamento 7 (pH 3 e 15 Krad) com os seguintes dados (6,33/3,18) e o extremo inferior, ao tratamento 3 (15 Krad e pH 7) com (4,6/-2,68), tendo-se neste último o efeito estimulante resultando em um I negativo.

Existe ainda uma outra limitação desta fórmula e que pode ser observado na Figura 5 (a) O ponto máximo (tratamento 7) resulta da proporção 6,33/3,18 e o segundo maior valor, o tratamento 13 de 29,08/14,99. Assim observamos que 15 Krad com pH 3 é mais eficiente para Msp/I que a combinação de 10 Krad e 1,0 mM de SA. É visível que os Msp são bem diferentes e bem maiores para SA e os danos também são bem diferentes, favorecendo os raios-gama. Assim, chega-se que 10 Krad é a dose com maior eficiência para Msp/I. Considera-se que esta fórmula supervaloriza o dano e prejudica o fator de mutações. Por isso, foi derivado uma nova fórmula que, além de considerar a possibilidade do efeito estimulante de um mutagênico, considere o dano na mesma importância que o fator de mutações (=Fator de mutações(1-Dano/100)). O detalhe da derivação será colocado no apêndice para não prejudicar a seqüência deste capítulo, além do que sua aplicação será

feita após terminar as observações dos resultados da aplicação da fórmula de KONZAK et al., (1965).

Da Figura 5 (a) em questão, mesmo com as limitações anotadas acima, podem-se fazer as seguintes observações:

1) Quando aplicado individualmente, as concentrações de SA são .foram mais eficientes que as de raios-gama.

2) Os tratamentos de SA em combinação com raios-gama tiveram uma tendência geral a decrescer em eficiência , todavia quando combinados com 10 Krad o declínio da eficiência foi relativamente pequeno. A combinação das concentrações de SA com doses maiores a 15 Krad parecem pouco influenciar sua eficiência.

3) As dosagens de raios-gama quando combinado com SA tenderam a declinar suavemente. Todavia 10 Krad quando combinado com 1mM produziu um incremento no Msp/I, desconhecendo-se entretanto, se combinado com maiores dosagens de SA continuará a mostrar tal tendência.

4) As maiores eficiências Msp/I para raios-gama corresponderam a 20 Krad (0,684) . No caso da SA correspondeu a 1 mM (1,018) e na combinação de mutagênicos a 10 Krad + 0,5 mM (0,560).

5) Os resultados do índice de eficiência $Msp(1-I/100)$ (Figura 5 (b)) repetiram as mesmas tendências daquela derivada do tradicional Msp/I, todavia, alguns aspectos merecem certas observações.

6) Foi muito mais notória a superioridade das eficiências da SA. É possível observar a eficiência de 15 Krad, que na Figura 5 (a) do Msp/I foi negativo e portanto não

interpretável, e, desse modo observar melhor a tendência da curva de eficiência dos raios-gama.

7) As dosagens ou concentrações com melhores eficiências $Msp(1-I/100)$ foram muito similares àquelas da Msp/I . Assim, tem-se 10 Krad para raios-gama(6,24), 1 mM para SA (24,81) e para a combinação, 10 Krad + 1,0 mM (20,97).

4.3.2 Msp/L_1 e $Msp(1-L_1/100)$

Da Figura 6 (a), que traz os dados de Msp/L_1 e Tabela 26 do apêndice, podem-se fazer as seguintes observações:

- 1) As concentrações de SA foram mais eficientes que as dosagens de raios-gama atingindo seu máximo com 1mM, desconhecendo-se se continuará a crescer com concentrações superiores a 1 mM e não tão elevadas quanto 5 mM. Por sua vez, os raios-gama atingem seu máximo de eficiência com 10 Krad.
- 2) A concentração mais eficiente (1 mM de SA) também teve um bom desempenho em combinação, mantendo valores mais altos quando combinado com 10 e 15 Krad, caindo bruscamente com 20 e 30 Krad.
- 3) As dosagens 10 e 15 Krad de raios-gama são beneficiadas na eficiência quando associadas com concentrações até 1mM de SA; já 20 Krad só é beneficiado até a concentração de 0,5 mM, após de este limite a queda é pronunciada. Entretanto, convém salientar que mesmo com essa contribuição, nos casos citados, os valores atingidos não

Figura 6. Eficiência mutagênica Msp/L_1 (a) e $Msp(1-L_1/100)$ (b) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.

são superiores aos obtidos por tratamentos individuais de SA. Portanto, outra maneira de interpretar este fato poderia ser: as Msp/L_1 das concentrações de SA que se mantem quando combinado com raios-gama, mostram um ligeiro incremento no caso da combinação 20 Krad e 0,5 mM.

4) As maiores eficiências Msp/L_1 correspondem a 1,073 para 10 Krad em raios-gama, 1,764 para 1 mM em SA e 1,730 na combinação de mutagênicos.

5) As eficiências $Msp(1-L_1/100)$ reproduzem as mesmas tendências comentadas na Figura 6 (a) correspondente a Msp/L_1 .

6) As dosagens ou concentrações que conferem as maiores eficiências para $Msp(1-L_1/100)$ são exatamente àqueles de Msp/L_1 ; todavia, a diferença proporcional na eficiência entre os mutagênicos aplicados individualmente é muito incrementada. Assim, tem-se 6,77 para 10 Krad de raios-gama, 39,24 para 1 mM na SA e 24,19 na combinação de mutagênicos 10 Krad e 1 mM .

4.3.3. Msp/L_2 e $Msp(1-L_2/100)$

Do estudo da Figura 7 (a) que traz os dados Msp/L e Tabela 26 do apêndice, podem-se fazer as seguintes observações:

1) As concentrações de SA provocaram na eficiência (Msp/L_2) diferenças não muito contrastantes com aqueles obtidos pelos raios-gama, quando comparado com os casos anteriores. Ambos os mutagênicos obtiveram suas máximas eficiências em valores semelhantes, 3,114 para 1mM em SA e 2,650 para 10

Figura 7. Eficiência mutagênica Msp/L₂ e Msp(1-L₂/100) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em item 3.2.3.

Krad em raios-gama ; mesmo assim, em termos de eficiência média, o tratamento de SA resulta sendo maior. Dosagens ou concentrações além desses ótimos, fizeram cair pesadamente as eficiências para os dois mutagênicos em questão. Todavia, no caso da SA existe, ainda, um intervalo pronunciado entre a dose ótima observada e a seguinte que é 5 vezes superior (1 e 5 mM).

2)As concentrações de SA, quando combinadas com raios gama, caíram bruscamente de eficiência e a queda foi maior quando a concentração mais eficiente combina-se com raios-gama, o mesmo acontecendo com a dose mais eficiente de raios-gama (10 Krad). Já, doses maiores de 10 Krad melhoraram a sua eficiência, quando combinadas com 1mM, caindo quando combinadas com 5 mM, embora de forma não muito pronunciada. Em síntese, a combinação mais eficiente para Msp/L₂ acontece com 10 Krad e 1 mM, com 1,345.

3)A Figura 7 (b) que representa Msp(1-L₂/100) repetiu as mesmas tendências entre os mutagênicos comentadas acima, com uma diferença importante. A eficiência da dosagem 10 Krad é modificada substancialmente no seu valor, porém, mantendo-se como a dose mais eficiente de raios-gama.

4)As dosagens ou concentrações que conferem as melhores eficiências Msp(1-L₂/100) são as mesmas daquelas obtidas com Msp/L₂. Assim, 10 Krad de raios-gama com 7,06, 1 mM de SA com 47,77 e na combinação de mutagênicos, 10 Krad e 1 mM com 22,79. Uma diferença importante entre estes resultados e aqueles obtidos com a fórmula Msp/L₂ é o incremento substancial na diferença entre as eficiências de cada um dos mutagênicos.

4.3.4. Msp/S e Msp(1-S/100)

Os dados de Msp/S (Tabela 26 do apêndice) estão presentes na Figura 8.(a) A interpretação desta Figura aponta as mesmas dificuldades de interpretação já anotadas anteriormente quando foi abordada Msp/I.

Aqui, a testemunha pH 3 resulta sendo o segundo tratamento mais eficiente, possuindo um pequeno valor de Msp e um valor menor ainda de dano, o que é explicável na sua condição de testemunha. Neste caso, a importância que confere a fórmula de KONZAK et al. (1965) ao baixíssimo valor de S faz com que a eficiência desta testemunha torne-se maior que tratamentos com Msp de 58,92, porém, com 30,86 de S.

Além das restrições anotadas à Figura 8 (a) -merece algumas observações:

1) A eficiência da SA é bem maior do que as de raios-gama, quando aplicados individualmente. O tratamento combinado é, de modo geral, muito prejudicial para a concentração mais eficiente de SA (1 mM); as outras concentrações também declinaram ao se combinarem, porém com menos queda. Os raios-gama ao se combinarem com 0,5 e 1 mM de SA, são beneficiados em eficiência Msp/S, com exceção de 30 Krad que saiu prejudicado ao se combinar com qualquer das concentrações. Todavia, convém salientar que os benefícios ou prejuízos por combinação são de efeitos pouco pronunciados comparadas com as eficiências das concentrações de SA aplicadas em tratamentos individuais. Isso pode ser percebido claramente no parágrafo seguinte.

2) As maiores eficiências Msp/S correspondem a 0,298 em 10 Krad , 2,077 para 0,5 mM em SA e 0,5860 na combinação de mutagênicos para 10 Krad e 1mM de SA.

3) A Figura 8 (b) do índice Msp(1-S/100) reproduz as tendências do gráfico Msp/S com algumas diferenças importantes. A eficiência da testemunha pH 3 desaparece como uma das maiores do gráfico. Também, as eficiências da combinação de mutagênicos não são tão baixas se comparado com as eficiências das maiores concentrações de SA, o mesmo que acontece na Figura 8 (a) (Msp/S).

4) As dosagens ou concentrações das maiores eficiências Msp(1-S/100) correspondem àqueles da fórmula Msp/S, 10 Krad para raios-gama com (5,50), 1 mM para SA com (40,73) e para a combinação de mutagênicos, 10 Krad + 1 mM (14,55). Entretanto, a grande diferença observada nas maiores eficiências (Msp/S) dos mutagênicos, quando aplicados individualmente, é um tanto amenizada ao usar Msp(1-S/100).

Um resumo das eficiências Msp/danos pode oferecer alguns aspectos interessantes.

<u>Índice</u>	<u>Raios-gama</u> <u>Azida sódica</u>				<u>Combinação</u>	
Msp/I	20 Krad	0,68	1 mM	1,77	10 Krad+1mM(SA)	0,98
Msp/L ₁	10 Krad	1,27	1 mM	1,76	10 Krad+1mM(SA)	1,73
Msp/S	10 Krad	0,30	0,5mM	2,08	10 Krad+1mM(SA)	0,59
Msp/L ₂	10 Krad	2,64	1 mM	3,11	10 Krad+1mM(SA)	1,34
Médias		1,17		1,99		1,05
Msp(1-I/100)	10 Krad	6,24	1 mM	24,81	10 Krad+1mM(SA)	20,97
Msp(1-L ₁ /100)	10 Krad	6,77	1 mM	29,24	10 Krad+1mM(SA)	24,19
Msp(1-S/100)	10 Krad	5,50	1 mM	40,73	10 Krad+1mM(SA)	14,55
Msp(1-L ₂ /100)	10 Krad	7,06	1 mM	47,77	10 Krad+1mM(SA)	22,70
Médias		6,39		38,14		19,72

Figura 8. Eficiência mutagênica Msp/S e Msp(1-S/100) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.

Pode-se inferir que a SA foi sempre mais eficiente que os raios-gama, em média 1,70 vezes, para o índice Msp/Dano; quando usado o outro índice $Msp(1-Dano/100)$ a diferença de eficiência média passa a ser maior que 5 vezes. Também, torna-se destacável no quadro anterior que as maiores eficiências são conseguidas para L_2 e as menores para I e L_1 , em ambos índices, tanto para cada mutagênico como em combinação. Quanto às desigualdades em valores de eficiência entre os mutagênicos em estudo, grandes diferenças foram percebidas para S e menores para L_1 e L_2 , com ligeiras diferenças entre ambos índices.

4.3.5. Msd/I e Msd(1-I/100)

A eficiência Msd/I (Tabela 27 do apêndice) está representada na Figura 9 (a), da qual podem-se fazer os seguintes observações:

- 1) Deixando de lado as limitações de interpretação dos Msd negativos, pode-se dizer que a diferença das situações anteriores (onde SA foi nitidamente mais eficiente), não existe uma clara definição de superioridade para qualquer um dos mutagênicos. Em média, uma ligeira superioridade da SA sobre os raios-gama é apontada.
- 2) A combinação das concentrações de SA com raios-gama acarreta sempre um prejuízo, embora com uma queda pouco pronunciada. Por sua vez, as dosagens de raios-gama, em geral tendem a aumentar quando combinadas com SA, embora também aconteça, em alguns casos, uma queda pouco pronunciada, diferente do que aconteceu com as eficiências que levam em conta Msp como fator de mutações.

Figura 9. Eficiência mutagênica Msd/I (a) e Msd(I-I/100) (b) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.

3) As maiores eficiências Msd/I corresponderam a 0,0135 com 20 Krad de raios-gama ,0,0253 com 5 mM de SA e na combinação de mutagênicos, 0,0167 para 10 Krad e 5 mM e 0,0165 para 10 Krad e 1mM.

4) A Figura 9 (b) que representa a eficiência Msd(1-I/100) restabeleceu a superioridade em eficiência da SA sobre os raios-gama, assim como do efeito de combinação. Este é o primeiro gráfico deste tipo que é discrepante de seu similar, embora resgate uma tendência que vem se repetindo nos índices de eficiência já analisados.

5) Os tratamentos com as maiores eficiências Msd(1-I/100) corresponderam às dosagens ou concentrações apontadas na eficiência Msd/I. Assim, corresponde a 30 Krad de raios-gama (0,1154); 1 mM de SA com 0,4622, seguido de perto por 5 mM com 0,4497, e combinação 10 Krad e 1 mM na combinação (0,3311) seguido de perto por 15 Krad e 5 mM (0,2992).

4.3.6. Msd/L₁ e Msd(1-L₁/100)

Da Figura 10 (a), que traz os dados de Msd/L₁ (Tabela 27 do apêndice), podem ser feito as seguintes observações:

1) Em termos médios, foi observada uma ligeira superioridade em eficiência das concentrações de SA sobre as eficiências das dosagens de raios-gama. A mesma coisa foi apontada no caso anterior (Msd/I). No tratamento combinado, as eficiências das concentrações de SA tendem a decrescer, embora com uma queda pouco pronunciada, com exceção de 1 mM de SA, quando combinado com 15 Krad

Figura 10. Eficiência mutagênica Msd/L₁ (a) e Msd(1-L₁/100) (b) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.

produzindo um valor excepcionalmente grande levando benefício na sua combinação.

2) As doses de raios-gama, quando combinados com SA, levam vantagem quando cruzadas até com valores de 1mM, decaindo quando combinada com 5 mM de SA. Todavia, não se pode dizer que o ponto de inflexão desta curva tenha sido atingido em 1 mM , faltando observar concentrações intermediárias entre estes valores.

3) As maiores eficiências Msd/L_1 corresponderam a 0,016, para 15 Krad de raios-gama, 0,0346 para 5 mM de SA seguido de perto por 0,0329 para 1 mM e 0,0417 na combinação de 15 Krad e 1 mM.

4) A Figura 10 (b) resultante das informações $Msd(1-L_1/100)$ resgatou a clara superioridade da SA sobre os raios-gama, além do destaque da eficiência da concentração de 1 mM, seguida da concentração de 5 mM.

5) As melhores eficiências $Msd(1-L_1/100)$ corresponderam a 0,090 para 10 Krad de raios-gama, 0,851 e 0,731 para 5 mM e 1 mM em SA, respectivamente, e 0,7305 na combinação de 30 Krad e 1 mM.

4.3.7. Msd/L_2 e $Msd(1-L_2/100)$

Da Figura 11 (a), que traz os dados de Msd/L_2 (Tabela 27 do apêndice) podem-se fazer as seguintes observações:

Figura 11. Eficiência mutagênica Msd/L₂ (a) e Msd(1-L₂/100) (b) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.

1) A eficiência das concentrações de SA aplicadas individualmente é indiscutível, todavia, a dosagem 10 Krad de raios-gama obteve valor superior aos obtidos por 0,5 mM de SA, embora inferior que 1mM já que as demais dosagens de raios-gama tiveram baixo desempenho em eficiência.

2) Quando em combinação, as concentrações de SA decaíram regularmente, repetindo-se o fato que a maior concentração de SA (5 mM) teve uma queda comparativamente menor que a de outra concentração alta de SA 1mM. Já a concentração de 0,5 mM, que tem baixa eficiência quando aplicada separadamente, mantém-se quase igual quando combinado com raios-gama. A baixa queda da concentração de 5 mM deve-se principalmente a um aumento do Msd acompanhado de aumentos não proporcionais em L_2 .

3) As maiores eficiências Msd/ L_2 correspondem a 0,0349 para 10 Krad de raios-gama, 0,058 para 1 mM em SA e 0,0408 na combinação de 15 Krad e 5mM.

5) O gráfico originado a partir dos dados de Msd($1-L_2/100$) reproduz as mesmas tendências de Msd/S, com um maior destaque para a concentração de 5 mM. Assim mesmo, a eficiência da dosagem 10 Krad não é mais posta em evidência.

6) As maiores eficiências para Msd($1-L/100$) foram: 0,0939 e 0,0834 para 10 e 15 Krad em raios-gama, 1,2484 para 5 mM em SA com , seguido de perto por 0,8898 para 1mM e na combinação de mutagênicos, 0,9170 para 15 Krad e 5 mM de SA.

4.3.8. Msd/S e Msd(1-S/100)

Da Figura 12 (a), que mostra os dados de Msd/S (Tabela 27 do apêndice) podem-se fazer as seguintes observações:

- 1) Foi clara a vantagem das concentrações de SA quando aplicadas individualmente, comparadas com os valores das eficiências dos raios-gama.
- 2) A concentração ótima de SA esteve em torno de 1mM, sendo que 5 mM consegue uma menor eficiência, embora fosse ainda superior à obtida pelos raios-gama.
- 3) Em combinação com raios-gama, as concentrações de SA declinaram rapidamente em eficiência com uma exceção importante não observada em outros casos. A maior concentração de SA (5mM) declinou suavemente quando associada com os raios-gama, tendo uma queda menos pronunciada que todas as concentrações de SA quando combinadas. Esta queda suave deve-se principalmente a um aumento maior no fator de mutações que devido a um menor dano.
- 4) As melhores eficiências Msd/S corresponderam a 0,0040 para 10 Krad de raios-gama , 0,0356 para 0,5 mM em SA e 0,0178 para 15 Krad e 5 mM na combinação de mutagênicos.
- 5) O gráfico que mostra os dados de Msd(1-S/100) (Figura 12 (b) repete as tendências da Figura 12 (a) (Msd/S). As melhores eficiências, neste caso, corresponderam a 0,0731 para 10 Krad em raios-gama, 0,7588 para 1 mM em SA e 0,2297 para 10 Krad e 1 mM para a combinação de mutagênicos.

Figura 12. Eficiência mutagênica Msd/S (a) e Msd(1-S/100) (b) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3

Um resumo das eficiências Msd é mostrado em continuação, após a figura 12.

sódica (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.

<u>Índice</u>	<u>Raios-gama</u>		<u>Azida sódica</u>		<u>Combinação</u>	
Msd/I	20 Krad	0,013	5 mM	0,025	15 Krad+5mM (SA)	0,017
					10 Krad+1mM (SA)	0,017
Msd/L ₁	15 Krad	0,016	5 mM	0,035	10 Krad+1mM (SA)	0,042
			1 mM	0,033		
Msd/S	10 Krad	0,004	1 mM	0,036	15 Krad+ 5mM (SA)	0,017
Msd/L ₂	10 Krad	0,035	1 mM	0,058	15 Krad+ 5mM (SA)	0,039
Médias		0,026		0,037		0,026
Msd(1-I/100)	30 Krad	0,115	1 mM	0,462	10 Krad+ 1mM (SA)	0,331
	15 Krad	0,093	5 mM	0,450	15 Krad+ 5mM (SA)	0,299
Msd(1-L ₁ /100)	30 Krad	0,141	5 mM	0,851	30 Krad+ 1mM (SA)	0,730
Msd(1-S/100)	10 Krad	0,073	5 mM	0,759	10 Krad+ 1mM (SA)	0,297
			1 mM	0,731		
Msd(1-L ₂ /100)	10 Krad	0,094	5 mM	1,243	15 Krad+ 5mM (SA)	0,917
	15 Krad	0,083				
Médias		0,098		0,753		0,515

Observa-se que a média da eficiência (Msd/Danos) de raios-gama e de SA não diferem de forma acentuada como nos casos anteriores, o mesmo não acontecendo com o índice Msd(1-D/100) que restabelece tal discrepância.

As maiores eficiências acontecem para L₂ e as menores para I e L₁ em ambos mutagênicos, individualmente ou em combinação para qualquer dos índices usados.

4.3.9. Mtsd/I e Mtsd(1-I/100)

Da Figura 13 (a), com os dados do Mtsd/I e Tabela 28 do apêndice podem-se observar:

1) Primeiramente, que as eficiências das concentrações de SA não tiveram destaque de superioridade sobre as dosagens de raios-gama, como visto na maioria dos casos anteriores.

Figura 13. Eficiência mutagênica M_{sd}/I (a) e $M_{sd}(1-I/100)$ (b) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica. (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.

Pelo contrário, a maior eficiência para tratamentos individuais corresponde a raios-gama com 20 Krad, com ligeira superioridade sobre a concentração de 5 mM de SA.

2) A este respeito, a eficiência do tratamento 7 (15 Krad em pH 3), merece uma observação. Ele atingiu uma eficiência maior que aquela obtida com o tratamento com 15 Krad, embora não fosse considerado como o melhor para raios-gama, devido ao fato da condição de tratamento com raios-gama e água com pH 7 ser considerada a mais adequada. Entretanto, esse altíssimo resultado do tratamento está relacionado à sensibilidade dos índices de KONZAK et al. (1965), anteriormente apontadas e que será comprovado ao se utilizar o índice de eficiência proposto.

3) Quanto ao efeito de combinação de mutagênicos, foi incomum encontrar incrementos na eficiência quando as concentrações 1 e 5 mM de SA combinaram-se com 10 e 15 Krad, respectivamente.

4) As maiores eficiências M_{tsd}/I corresponderam a 0,0795 para 20 Krad e de raios-gama, 0,0668 para 5 mM em As, e 0,0935 para 10 e 1 mM na combinação de mutagênicos.

5) A figura 13 (b) com os dados $M_{tsd}(1-I/100)$ restabelece a superioridade evidente em eficiência da SA, em concentrações maiores ou iguais a 1 mM. Assim mesmo, é observado que o tratamento 7 teve um valor com as outras dosagens de raios-gama. Com referência ao efeito de combinação, se manteve o incremento na eficiência ao se combinar 10 Krad com 1 mM, não se repetindo para a concentração de 5 mM.

6) As maiores eficiências $M_{tsd}(1-I/100)$ corresponderam a 0,6067 para 30 Krad de raios-gama, 1,4056 para 1mM em SA, e 1,882 para combinação de mutagênicos 10 Krad e 1 mM.

4.3.10. M_{tsd}/L_1 e $M_{tsd}(1-L_1/100)$

Da Figura 14 (a) com referência á eficiência M_{tsd}/L_1 e Tabela 28, podem ser feita os seguintes observações:

- 1) O desempenho dos mutagênicos para M_{tsd}/L_1 é pouco diferente quanto ao máximo valor de eficiência: 0,104 para 30 Krad de raios-gama, 0,99 para 1 mM de SA. Todavia, o desempenho dos diferentes tratamentos, dentro de cada mutagênico, tem algumas variações importantes. No que se refere aos raios-gama, teve uma tendência crescente conforme aumentou a dosagem, baseado principalmente num aumento do número de mutantes e num aumento não proporcional na L_1 . No caso da SA, a eficiência da concentração de 0,5 mM é relativamente baixa; duplicando esta concentração atinge-se a máxima eficiência, decaindo quando aplicado 5,0 mM.
- 2) Quanto aos tratamentos combinados , é notável e favorável o efeito da combinação da concentração de 1,0 mM, atingindo a maior eficiência da Tabela. Merece observação também o efeito da combinação de 0,5 mM, que produz efeitos pouco pronunciados quando combinado com 10 Krad, melhorando sensivelmente ao se combinar com 20 Krad.
- 3) As maiores eficiências M_{tsd}/L_1 corresponderam a 0,104 para 30 Krad com em raios-gama, 0,0999 para 1mM de SA, e 0,1734 para a combinação 20 Krad e 1 mM.

Figura 14. Eficiência mutagênica M_{tsd}/L_1 e $M_{tsd}(1-L_1/100)$ nos tratamentos com raios-gama e azida sódica. (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.

4) Na Figura 14 (b) que representa $M_{tsd}(1-L_1/100)$ foram acrescentadas as diferenças de raios-gama e SA, favorecendo plenamente este último. Assim mesmo, o bom desempenho da combinação 1 mM com as dosagens de raios-gama é bem salientado.

5) As maiores eficiências $M_{tsd}(1-L_1/100)$ corresponderam a 0,7534 para 30 Krad de raios-gama, 2,226 para 1 mM de SA, e 2,8856 para a combinação 30 Krad e 1 mM.

4.3.11 M_{tsd}/L_2 e $M_{tsd}(1-L_2/100)$

Da Figura 15 (a) com os dados M_{tsd}/L_2 e Tabela 28 do apêndice pode-se fazer as seguintes observações:

1) É observado que as eficiências M_{tsd}/L_2 dos tratamentos com raios-gama e SA tem um comportamento um tanto diferente. Os raios-gama atingiram sua máxima eficiência com a dosagem mínima aplicada (10 Krad) para depois diminuir progressivamente, conforme aumentam as dosagens. Por sua vez, as concentrações de SA obtiveram sua máxima eficiência com 1,0 mM, superando com destaque ao desempenho de 0,5 mM; quanto à concentração de 5 mM não repetiu o desempenho de 1 mM fazendo cair a eficiência.

2) Com referência à combinação de mutagenicos, o desempenho é satisfatório quando concentrações superiores ou iguais a 1 mM combinam-se com as dosagem de raios-gama.

3) As maiores eficiências M_{tsd}/L_2 correspondem a 0,1215 para 10 Krad de raios-gama, 0,1764 para 1 mM em SA, e 0,1207 para a combinação 10 Krad + 1 mM.

(a) Eficiência Mutagênica Mtsd/L₂ (b) Eficiência mutagênica Mtsd(1-L₂/100)

Figura 15. Eficiência mutagênica Mtsd/L₂ (a) e Mtsd(1-L₂/100) (b) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica. (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.

4) A Figura 15 (b) que representa a eficiência $M_{tsd}(1-L_2/100)$ é, em termos médios, semelhante ao seu similar M_{tsd}/L_2 ; todavia, dentro dos tratamentos de cada mutagênico, algumas mudanças ocorreram. A máxima eficiência para raios-gama não corresponde mais à dosagem mínima aplicada, mas sim à maior. Quanto a concentração de máxima eficiência, também mudou, onde 5 mM substituiu a 1 mM. Com referência a eficiências de combinação também aconteceram alterações; o melhor tratamento combinado para $M_{tsd}(1-L/100)$ é diferente de M_{tsd}/L e foi ligeiramente maior que a melhor eficiência da SA.

5) As maiores eficiências $M_{tsd}(1-L/100)$ corresponderam a 0,5544 para 30 Krad de raios-gama, 3,2758 para 5 mM de SA e 3,3542 para a combinação 15 Krad e 5 mM.

4.3.12 M_{tsd}/S e $M_{tsd}(1-S/100)$

Da Figura 16 (a) que representa os M_{tsd}/S e Tabela 28 do apêndice podem ser feitas as seguintes observações:

1) A eficiência da SA é claramente superior a raios-gama, atingindo seu máximo valor na concentração de 1,0 mM com 0,107, enquanto que a máxima eficiência das dosagens de raios-gama é conseguida com a mínima dose utilizada, 10 Krad (0,013). Entretanto, as eficiências das outras dosagens são similares. Por outro lado, comparando as máximas eficiências de ambos os mutagênicos, foi encontrada uma diferença de mais de 9 vezes a favor de SA. Isto pode ser observado na Figura 28 (b), onde as eficiências das dosagens de raios-gama são de baixo valor e uniformemente pequenas. Não acontece o mesmo com SA, onde a concentração de 0,5 mM teve uma eficiência relativamente baixa em

Figura 16. Eficiência mutagênica Mtsd/S e Mstd(1-S/100) nos tratamentos com raios-gama e azida sódica. (SA) segundo a tabela fatorial em 3.2.3.

relação a outras de SA, sendo, mesmo assim, superior a qualquer eficiência das dosagens de raios-gama. Por sua vez, a concentração de 1,0 mM eleva pronunciadamente a eficiência para depois ter uma queda com 5,0 mM.

2) O alto valor relativo da testemunha pH3 (0,07) não é devido a que este "tratamento" tenha uma alta eficiência em si, mas sim pela particularidade da fórmula de KONZAK et al. (1965) comentada, onde ela se mostra hipersensível para baixos valores de danos. Neste caso, o Mtsd do testemunha pH3 (tratamento 6) em questão é baixo (0,0119), sendo que a S é muito baixa (0,17), o que corresponde à sua condição de testemunha. Assim no calculo da eficiência $Mtsd/S$, resulta num valor relativamente alto, comparativamente a outros tratamentos, que conseguiram altos índices de eficiência com altos Mtsd e não com baixíssimos valores de S. Outra observação a este respeito é que com a Mtsd da testemunha pH 7 (0,0384), não pode ser calculada porque, por definição o dano, S da testemunha é considerado como zero e, com isso, a divisão $Mtsd/S$ torna-se infinito. Por esse motivo e por comodidade, a eficiência da testemunha é considerado como nula.

3) Quanto à combinação de mutagênicos, é observado na Figura 16 (a) que esta sempre ocasiona um decréscimo, no que se refere a SA; pelo lado dos raios-gama, a combinação é sempre positiva.

4) A maior eficiência resultante da combinação de mutagênicos correspondeu a 0,062 para 15 Krad e 5mM, sendo este valor bem maior que sua contraparte em raios-gama (0,013), entretanto, inferior 1,72 vezes à máxima eficiência obtida por SA individualmente (0,108).

5) A figura 16 (b) que representa as eficiências $M_{tsd}(1-S/100)$ reproduziu as mesmas tendências da Figura 16 (a) (M_{tsd}/S), dando uma maior ênfase na eficiência da concentração de 1 mM.

6) A maior eficiência $M_{tsd}(1-S/100)$ correspondeu a 0,2961 para 20 Krad em raios-gama, 2,3074 para 1 mM de SA, e 1,3059 para a combinação 10 Krad e 1 mM.

Um resumo das eficiências M_{tsd} é mostrado a seguir:

<u>Índice</u>	<u>Raios-gama</u>	<u>Azida sódica</u>	<u>Combinação</u>
M_{tsd}/I	20 Krad 0,080	5 mM 0,067	10 Krad+1mM(SA) 0,093
M_{tsd}/L_1	30 Krad 0,104	1 mM 0,099	20 Krad+1mM(SA) 0,173
M_{tsd}/S	10 Krad 0,014	1 mM 0,108	15 Krad+5mM(SA) 0,062
M_{tsd}/L_2	10 Krad 0,125	1 mM 0,176	10 Krad+1mM(SA) 0,121
Médias	0,0807	0,113	0,097
$M_{tsd}(1-I/100)$	30 Krad 0,607	1 mM 1,406	10 Krad+1mM(SA) 1,882
$M_{tsd}(1-L_1/100)$	30 Krad 0,753	1 mM 2,223	30 Krad+1mM(SA) 2,886
$M_{tsd}(1-L_2/100)$	30 Krad 0,554	5 mM 3,276	15 Krad+5mM(SA) 3,354
$M_{tsd}(1-S/100)$	20 Krad 0,296	1 mM 2,307	10 Krad+1mM(SA) 1,306
Médias	0,552	2,303	2,357

Pode-se observar para M_{tsd}/Dano que, em média, SA foi duas vezes mais eficiente que os raios-gama e que as eficiências da combinação foram muito semelhantes aos obtidos pela SA. Quanto ao outro índice $M_{tsd}(1-\text{Dano}/100)$ repete as mesmas tendências acrescentando mais o destaque das eficiências da SA sobre os raios-gama. Já, as eficiências médias por combinação são salientadas como ligeiramente superiores às conseguidas por SA.

Com respeito às médias calculadas, é bom salientar que existem diferenças importantes quanto às eficiências para cada um dos danos; assim, falando-se inicialmente do índice M_{sp}/Danos , pode-se afirmar: os raios-gama obtiveram

as maiores eficiências para L_1 e as menores para S; pelo contrário a SA conseguiu a maior eficiência para L_2 e a menor para I. Neste último (I) é bom lembrar que este resultado só é possível pelo elevado valor do Mtsd, porque os I da SA são bem maiores que os de raios-gama.

Quanto à variação das eficiências da combinação de mutagênicos, ela acompanha aquelas dos raios-gama, vale dizer, as maiores eficiências são obtidas com L_1 e as menores com S. Quanto às diferenças de valor das eficiências pode-se perceber, no quadro em questão, que as discrepâncias maiores acontecem para S e L_2 e as menores para L_1 e I, com ênfase para ambos os casos para o primeiro dos indicados.

Quanto aos valores das eficiências para a combinação, são encontradas respostas positivas sobre o mutagênico individual mais eficiente (SA) fundamentalmente no dano L_1 e, ligeiramente, em I. A combinação é prejudicial em eficiência, principalmente, em S e em menor quantidade em L_2 , mesmo assim tais eficiências são superiores àquelas obtidas pelos raios-gama.

Globalizando as eficiências para cada mutagênico e em combinação, pode-se afirmar que para o índice Mtsd/Dano, a maior eficiência foi conseguida para L_1 e a menor para S, com uma diferença de valores de mais de duas vezes.

As observações anteriores, quando aplicadas ao índice $Mtsd(1-Danos/100)$, produz, essencialmente os mesmos resultados, com algumas diferenças. Deslocou para segundo lugar a eficiência em que está envolvida L_1 , sendo a maior eficiência na combinação, aquela que envolve L_2 , todavia coincide com o dano em que se têm a menor eficiência (S).

O confronto das eficiências, em termos gerais, não é tarefa fácil. Quanto ao Msp/S dos raios gama, os dados são inferiores aos obtidos por MIKAELSEN et al.(1971), GUIMARÃES & ANDO (1980), RAO & RAO (1983); são semelhantes ao verificados por KAUL & BHAN (1977) em uma variedade e menor em outras duas; na maioria, são superiores aos obtidos por REDDI & RAO (1988). No que se refere à eficiência Msp/L₂, os resultados do presente trabalho são inferiores aos de KAUL & BHAN (1977) e GUMARAES & ANDO (1980) e semelhantes a MIKAELSEN et al. (1971). A eficiência Msp/I observada é um pouco inferior aos conseguidos por GUIMARÃES & ANDO (1980) e inferior a KAUL & BHAN (1977).

As eficiências Msd/Dano oferecem poucas informações na literatura, para confrontar com os aqui observados. As eficiências Msd/L₂ para raios-gama foram superiores aos de MIKAELSEN et al., (1968) e um pouco inferiores a KAUL & BHAN (1977). Quanto a Msd/L₂ da SA, KAUL & BHAN (1977) obtiveram resultados um pouco superiores com os mutagênicos EMS e DES.

4.4. Análise de espectro de mutações de clorofila

Com a finalidade de verificar se as dosagens ou concentrações dos mutagênicos utilizados influem no espectro de mutações, foram tomados os dados mostrados na Tabela 9.

Tabela 9. Espectro de mutação de clorofila dos tratamentos com raios-gama e azida sódica.

Tratam.*	Albino	Víridis	Xantha	Tigerina	Estriata	Outros	Total
1	0	20	0	0	0	0	20
2	157	65	8	1	0	7	238
3	203	2	4	0	9	1	219
4	140	51	2	3	2	20	218
5	142	37	3	0	1	1	184
6	3	0	0	0	0	4	7
7	267	14	1	0	1	26	309
8	70	19	96	6	20	1	212
9	104	14	21	0	1	10	150
10	277	47	3	0	0	4	331
11	275	88	43	0	6	47	459
12	702	211	130	45	5	102	1195
13	496	113	37	51	13	29	739
14	280	60	127	15	0	138	620
15	293	86	24	25	28	31	587
16	132	17	5	3	0	1	158
17	356	280	88	20	9	14	767
18	128	74	66	49	6	116	439
19	9	2	0	10	0	0	21
Totais	4134	1200	658	228	101	552	6873
Proporção	0,6015	0,1746	0,0957	0,0332	0,0146	0,0803	1,00

(*) Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.

Pode-se observar que o número de tipos diferentes de mutantes foi relativamente amplo, todavia quanto ao número por tipo, albinos constituem a grande maioria deles e em segundo lugar vem os víridis, ficando o resto bem abaixo das duas classes mencionadas.

A predominância de albinos sobre víridis no espectro resultante de tratamentos com mutagênicos físicos e químicos não é uma unanimidade na literatura. ANDO (1970), encontrou uma maior taxa de albinos usando EO, EI, DS e EMS,, bem como com raios-gama. Também atingiram o mesmo resultado MIAH & AWAN (1971) com nêutrons e raios-gama; RAO (1977) com EMS e raios-gama.; KAUL & BHAN (1977), por sua vez, acharam uma maior taxa de albina em duas variedades de arroz estudadas, contudo, em uma terceira

variedade, a taxa de víridis foi maior que a de albinos e, finalmente, RAO & RAO (1983), aplicando MMS, MMU e HA, também encontraram uma maior taxa de albinos.

Pelo contrário, uma maior taxa de víridis foi reportado em arroz por BHAN & KAUL (1976), AWAN et al., (1980) usando SA; REDDI & REDDI (1984) com MMS, dms e dES; REDDI & RAO (1988) com SA em duas de três variedades tratadas e REDDI & SUNEETHA (1992) com EMS.

Em outras culturas, a predominância dos albinos também tem resultados conflitantes. Assim, em cevada, AASTVEIT (1967) encontrou, em três experimentos com mutagênicos físicos e químicos, uma mistura de resultados favorecendo os albinos ou os víridis para os dois tipos de mutagênicos.

Segundo MICKE (1970), acredita-se que as diferenças espectrais em albinos e víridis, entre mutagênicos físicos e químicos, devem-se, em pequena extensão, à diferentes mutações nos cromossomas. Seria mais acertado asseverar, segundo ele, que essas diferenças são resultado de distinta proporção entre mutações genéticas, pequenas deficiências e aberrações cromossômicas. Estas últimas podem produzir outro grupo de genótipos, diferentes dos primeiros e, em adição, podem afetar o espectro de mutação, acrescentando a seleção haplôntica e diplôntica.

A predominância de albinos sobre víridis no espectro, também, foi observada nos tratamentos combinados. Resultados similares foram obtidos por KAUL & BHAN (1977) associando raios-gama + EMS ou DES. Contudo, REDDI & RAO (1988), combinando raios-gama e SA, encontraram a

predominância de víridis nas variedades de arroz, Fujiminori e Jaya.

Com referência ao número de tipos de mutantes que aparecem nos diversos tratamentos, percebe-se que não existem diferenças marcantes entre eles, ficando entre 5 e 6, sendo uma exceção o tratamento 19 que ficou com apenas três tipos. Este número baixo no espectro deste tratamento pode-se explicar não por uma falta de maiores valores em si mas devido a dificuldades de se avaliar o espectro. Acontece que este tratamento combina as maiores dosagens utilizadas de raios-gama e SA e este fato afetou de forma importante o tamanho da amostra (ver Tabela 8). Tanto é assim que atingiu só 767 plântulas M_2 para uma média de 33.420 atingida pelo resto dos tratamentos.

Fazendo-se um contraste entre as médias de tipos de mutantes, diferentes do espectro dos tratamentos com raios-gama (5,28) e azida sódica (5,67), e, ainda, da combinação (5,67), pode-se perceber que não variam de forma importante, confirmando o que foi referido linhas acima. Isso quer dizer que os mutagênicos empregados neste trabalho, quando aplicados individualmente, ou mesmo em combinação, originam um número semelhante de tipos diferentes de mutantes.

Entretanto, existem desigualdades marcantes nos valores médios de mutantes por tipo para raios-gama ($859/24=35,79$) e azida sódica ($2112/58=117,33$), colocando-se a combinação no meio de ambos ($3354/48=69,87$). Todavia, estas médias por tipo simplificam muito os dados, conforme será visto em continuação. Assim, quando analisado, o espectro das várias dosagens de raios-gama (Figura 17 (a)) diferem nas dosagens ($\chi^2= 449,17$ com 4 G.L.).

Figura 17. Espectro de mutação de clorofila dos tratamentos individuais de raios-gama (a) e azida sódica (b).

Todavia, as desigualdades mais importantes originam-se nas diferenças em albinos, e, seguindo em importância, em víridis, sendo muito menores as diferenças nos outros tipos de mutantes.

Quanto às diferenças no espectro de mutações dos tratamentos com SA (Figura 17(b)), adverte-se que, também, existem desvios no espectro para as diferentes concentrações ($\chi^2 = 150,01$). Um aspecto a salientar é o baixo número de tipos de mutantes da concentração de 0,5 mM. Por sua vez, a concentração de 1,0 mM é, claramente, superior em número de tipos de mutantes e principalmente quanto ao número de mutantes por tipo. A concentração de 5 mM mostra um decréscimo no número de mutantes por tipo, principalmente em albinos, todavia, o número de víridis é acrescentado, embora em número não pronunciado.

Enfrentando a soma dos espectros das dosagens de raios-gama e as das concentrações de SA, tem-se uma visão resumida das particularidades destes mutagênicos quanto a espectro (Figura 18). Existem desigualdades quanto aos valores do espectro destes mutagênicos ($\chi^2 = 139,31$). É facilmente observado que as diferenças são grandes quanto ao número de mutantes por tipo em todos eles, com exceção do tipo estriata.

Para abordar a homogeneidade dos espectros dos tratamentos combinados com o espectro de cada um dos que compõem a combinação, foi elaborada a Tabela 10. Pode-se observar que existem diferenças estatisticamente significativas entre os espectros dos tratamentos combinados com relação a qualquer um deles aplicados

Figura 18. Espectro de mutação de clorofila globalizado de raios-gama e azida sódica.

individualmente, com uma única exceção. O tratamento 16 não diferiu do espectro originado pelo dose de 30 Krad (T5), um dos dois tratamentos da combinação. Isso sugere que dosagens mais altas de raios-gama poderiam se igualar ao espectro originado por combinação com SA. Todavia, essa consideração tem pelo menos dois aspectos

Tabela 10. Teste de homogeneidade dos espectros de mutações dos tratamentos combinados de raios-gama e azida sódica e os respectivos tratamentos individuais.

Contraste dos tratamentos (Ti)	X ²
T ₁₀ (T ₂ +T ₉) e T ₂	42,64 **
T ₁₀ e T ₉	52,85 **
T ₁₁ (T ₄ +T ₉) e T ₉	18,66 **
T ₁₁ e T ₄	16,89 **
T ₁₃ (T ₂ +T ₁₂) e T ₂	59,31 **
T ₁₃ e T ₁₂	54,78 **
T ₁₄ (T ₃ e T ₁₂) e T ₃	164,46 **
T ₁₄ e T ₁₂	119,61 **
T ₁₅ (T ₄ +T ₁₂) e T ₄	26,08 **
T ₁₅ e T ₁₂	49,02 **
T ₁₆ (T ₅ +T ₁₂) e T ₅	7,34 ns
T ₁₆ e T ₁₂	39,49 **
T ₁₈ (T ₃ +T ₁₇) e T ₃	239,42 **
T ₁₈ e T ₁₇	247,61 **
T ₁₉ (T ₅ +T ₁₇) e T ₅	82,43 **
T ₁₉ e T ₁₇	86,38 **

contrários. Primeiro, a falta de significância do espectro de um tratamento combinado em relação aos raios-gama constitui um único caso em oito estudados (Tabela 10). Segundo, a informação espectral do tratamento combinado 16 apresenta uma amostra relativamente pequena, comparativamente aos demais tratamentos, com exceção do último. O tamanho da amostra pode ter prejudicado as diferenças espectrais com o tratamento 5.

Vale salientar que as divergências apontadas anteriormente, referem-se às proporções dos tipos de mutantes avaliados. Todavia tais mudanças podem ser mais interessantes quando vem acompanhadas no Mtsd. Assim, combinações das dosagens de raios-gama envolvendo 0,5 mM de SA, causam também um incremento substancial no Mtsd, especialmente na combinação com 20 Krad. Porém, o máximo valor Mtsd das combinações recém mencionadas é bem menor aos conseguidos na combinação de 1 mM com 10 Krad. Apesar disso, o Mtsd desta última combinação é inferior ao do tratamento individual de 1mM. O desafio é, portanto, obter uma combinação de mutagênicos que, além de mudanças no espectro, consiga Mtsd mais alto do que os mesmos individualmente.

4.5. Efeito da combinação de tratamentos com raios-gama e azida sódica.

Na combinação de mutagênicos com o intuito de se avaliar a sua eficiência, é interessante conhecer se existe um efeito aditivo entre os mesmos, em relação aos seus efeitos individualmente.

No presente trabalho, foi calculado o efeito da combinação dos raios-gama com azida sódica sobre as características que compõem o fator de dano (I , L_1 , L_2 e S), fator de mutações (M_{sp} , M_{sd} e M_{tsd}) e sobre a eficiência mutagênica (M_{sp}/I , M_{sp}/L_1 . etc.).

4.5.1. Efeito sobre os danos

4.5.1.1. Efeito sobre a redução da altura de plântulas (I)

O efeito de combinação dos raios-gama e azida sódica sobre a redução da altura de plântulas. (Figura 19 (a) e Tabela 11), não pode ser testado através do teste de χ^2 , por tratar-se de dados de natureza contínua. Por esse motivo, foi formulado o índice efeito de combinação de tratamentos (ECT).

O ECT tem a fórmula a seguir:

$$ECT_{i,j} = (Ef_{i+j}) * 100 / (EfT_i + EfT_j).$$

Onde

$ECT_{i,j}$ = Efeito de combinação dos tratamentos i e j

Ef_{i+j} = Efeito do tratamento combinado i+j

EfT_i = Efeito do tratamento i

EfT_j = Efeito do tratamento j

Quando o $ECT = 100$, indica completa aditividade dos efeitos, quando $ECT < 100$, mostra um modelo de menos aditividade, que é chamado sub-aditividade e quando $ECT > 100$, mostra um excesso da soma dos efeitos, denominado de sobre-aditividade. A sub-aditividade é desejável quando os efeitos referem-se a danos e, ao contrário, a aditividade é apreciada quando se trata de fator de mutações (Msp, Msd, Mtsd), ou das eficiências (Msp/I, Msp/L₁, etc.) A sobre-aditividade é altamente desejável, também, para o último grupo de efeitos mencionados, embora de difícil realização.

Figura 19. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios-gama e azida sódica, para os danos: redução de altura (a) e letalidade aos 14 dias (b). Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.

Convém salientar que o índice ECT não é tão exato quanto o X^2 , quando se trata de medir a aditividade de um modelo, porque não leva em conta a adequação a uma distribuição de probabilidade, como é o caso do X^2 . Contudo, ele é muito útil, quando não se pode aplicar o teste de X^2 às eficiências mutagênicas.

Segundo os dados de ECT, sobre a redução da altura de plântulas (Tabela 26) pode-se dizer que teve um bom nível de aditividade de efeitos, com uma média de 90,8. Todavia, no cálculo do ECT para cada um dos tratamentos, encontraram-se casos de sobre-aditividade nos tratamentos 11, 14, 16 e 18, sugerindo que grande parte dos tratamentos combinados de dosagens de 15 a 20 Krad com concentrações de 1 ou 5 mM, resultaram em efeitos aditivos. Como no caso de danos a aditividade dos efeitos é prejudicial, sendo importante procurar aqueles tratamentos de menor ECT. Assim, o Tratamento 13 (10 Krad+1mM(SA)) apresentou um menor ECT, significando que, combinando baixas dosagens de raios-gama com 1 mM de SA, os resultados foram benéficos devido à baixa aditividade.

4.5.1.2. Efeito sobre a letalidade aos 14 dias

O efeito de combinação sobre a letalidade aos 14 dias, observado em seu todo (Figura 19 (b) e Tabela 11), não acompanhou um modelo aditivo, sendo os desvios altamente significativos ($X^2 = 167,21$ ** com 6 G.L.). Todavia, particularizando um modelo aditivo para cada um dos tratamentos combinados foi constatado que os tratamentos 10, 15 e 16 seguiram um modelo aditivo com X^2 ns com 1 G.L. (1,39, 0,27 e 0,34, respectivamente, para um X^2 de tabela = 3,84, para um nível de 5% de probabilidade).

Quanto aos demais tratamentos, pode-se dizer, a partir do teste de X^2 , que não seguem um modelo aditivo. Quanto ao ECT da redução da sobrevivência aos 14 dias, pode-se observar que o ECT dos tratamentos 14, 13 e 11 teve a maior sub-aditividade (Tabela 26 no apêndice), sendo isso interessante, posto que os efeitos danosos não são somados na combinação. Tratam-se dos tratamentos que envolvem as dosagens mais baixas de raios-gama (10 e 15 Krad), associadas com as concentrações mais baixas de SA (0,5 e 1 mM). Pelo contrário, o uso de tratamentos combinados com as maiores dosagens ou concentrações acarretaram efeitos danosos aditivos, como no caso do T₁₉ (30 Krad+5 mM).

4.5.1.3 Efeito sobre a letalidade à maturidade (L₂)

O efeito da combinação de mutagênicos para o dano letalidade à maturidade (Figura 20 (a) e Tabela 11, quando analisado na totalidade dos tratamentos envolvidos, não correspondeu a um modelo aditivo, embora com um X^2 inferior que L_1 ($X^2 = 41,71$). Entretanto, no teste de X^2 para cada tratamento foi achado que cinco dos oito tratamentos combinados seguiram um modelo aditivo (tratamentos 10, 13, 14, 16 e 19). Quer dizer, que a aditividade na redução da sobrevivência aos 14 dias ocorre dentro de uma variedade de dosagens ou concentrações. Já, o tratamento com menos aditividade correspondeu ao tratamento 11 (20 Krad+0,5 mM SA) e sugere que doses médias de raios-gama com concentrações baixas de SA causam uma menor aditividade na redução da sobrevivência aos 14 dias.

4.5.1.4. Efeito sobre a redução da fertilidade (S)

O dano redução da fertilidade (S) (Figura 20 (b) e Tabela 11, tampouco se adaptou a um modelo aditivo segundo o X^2 ao conjunto ($X^2 = 491,64$). Por outro lado, ao se aplicar o X^2 para cada um dos tratamentos combinados, o que não é possível ser feito para os tratamentos 16, 18 e 19, tendo em vista que nestes tratamentos o número esperado da esterilidade é de 100% e, portanto, o número esperado de férteis é zero, invalidando o teste X^2 , segundo PIMENTEL GOMES (1985). Devido a esse fato, foram utilizados exclusivamente os dados de ECT. O único tratamento combinado adaptado a um modelo aditivo, segundo o X^2 individual, foi o tratamento 11, já que os demais não seguiram tal modelo. Todavia, segundo os dados de ECT, tratamentos 10, 13 e 14, não estavam muito longe de se adaptarem ao modelo aditivo. O tratamento 15 (15 Krad e 1mM) foi o tratamento que mostrou a menor aditividade dos danos.

Tabela 11. Efeito de combinação de tratamento com raios-gama e SA sobre os danos: redução de altura de plântulas M_1 (I), letalidade aos 14 dias (L_1), letalidade à maturidade (L_2), redução da fertilidade (S) e das freqüências ao nível de panícula M_1 , (M_{sp}), ao nível de plântulas M_2 (M_{sd}) e ao nível de mutantes/plântulas M_2 (M_{tsd})

Tratamentos*	I	L_1	L_2	S	Médias
ECT(T_{10})=(T_2+T_9)	66,3	88,8	117,0	92,8	91,2
ECT(T_{11})=(T_4+T_9)	137,6	46,6	57,8	100,7	85,7
ECT(T_{13})=(T_2+T_{12})	38,8	41,8	99,8	90,5	67,7
ECT(T_{14})=(T_3+T_{12})	104,1	39,1	95,2	88,3	81,7
ECT(T_{15})=(T_4+T_{12})	82,3	58,7	70,6	71,0	70,7
ECT(T_{16})=(T_5+T_{12})	102,3	88,3	107,2	87,5	96,3
ECT(T_{18})=(T_3+T_{17})	107,8	110,6	87,2	89,2	98,7
ECT(T_{19})=(T_5+T_{17})	87,0	136,4	106,8	99,3	107,4
Médias	90,8	76,3	92,7	89,9	87,4

(*) Os tratamentos nomeados como T.. estão descritos no item 3.2.3.

Figura 20. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios-gama e azida sódica, para os danos: letalidade à maturidade (a) e redução da fertilidade (b). Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.

O dano esterilidade é o mais importante dos danos, segundo muitos especialistas, e conseguir uma combinação que tenha o mínimo de aditividade é um grande objetivo. Entretanto, no presente trabalho, foi observado uma acentuada soma dos efeitos de esterilidade, sendo que o mínimo ECT foi 71,04%.

Fazendo um resumo dos dados de ECT dos danos (Tabela 11), observa-se que a aditividade média de todos os danos foi relativamente alta, sendo os maiores sobrevivência à maturidade, redução da altura e esterilidade e um pouco inferior sobrevivência à maturidade. Levando-se em conta que os danos são simultâneos, foi considerado importante conhecer as médias dos ECT dos tratamentos combinados, com o intuito de procurar aqueles que aproveitam a menor taxa de aditividade desejada para todos os danos. Assim, o tratamento 15 (20 Krad e 1 mM) parece ser o mais interessante, considerando a importância predominante da esterilidade apontada atrás.

4.5.2. Efeito sobre o fator de mutações

4.5.2.1. Efeito sobre Msp

O Msp (Figura 21 (a) e Tabela 12), de acordo com o teste de X^2 , não se adaptou a um modelo aditivo com um X^2 ainda maior que para a esterilidade ($X^2 = 672,87$). Ao se calcular o X^2 para cada tratamento combinado, só o tratamento 11 (10 Krad e 0,5 mM SA) adaptou-se ao modelo aditivo, o que é desejável no caso do fator de mutações, porém, o tratamento 11 possui um dos menores Msp, o que faz com que essa vantagem de aditividade não se traduza em obter-se

Figura 21. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios-gama e azida sódica, para os fatores de mutação Msp (a) e Msd (b). Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.

incremento importante nos valores de Msp. E isso se dá devido ao fato dos demais tratamentos não se ajustarem ao modelo aditivo, em razão da grande interação negativa nos tratamentos combinados. Assim, a ECT média da Msp foi de 40,9%, bem inferior àqueles obtidos no fator danos, que tem uma média geral de 87,42%.

4.5.2.2. Efeito sobre Msd

Os dados de Msd (Figura 21 (b) e Tabela 12)) no seu conjunto não se adaptam a um modelo aditivo, segundo o χ^2 obtido para esse teste ($\chi^2 = 295,16$).

Todavia, existem tratamentos combinados que quando considerado individualmente, obtiveram desvios não significativos do modelo aditivo. São os tratamentos 11, 16 e 19. Isto sugere que combinando dosagens iguais ou menores que 20 Krad com as concentrações iguais ou menores que 1 mM de SA, podem obter-se efeitos aditivos e de valores relativamente altos para Msd nos tratamentos combinados. Já, o uso de baixas dosagens de raios-gama como 10 ou 15 Krad com concentrações de 0,5 ou 1 mM acarretou baixos efeitos aditivos para Msd. Por sua vez, o tratamento com 15 Krad e 5 mM esteve bem próximo à aditividade.

4.5.2.3. Efeito sobre Mtsd

O Mtsd (Figura 22 e Tabela 12), no contexto geral, não se adaptou a um modelo aditivo ($\chi^2 = 350,76$). Todavia no teste para cada tratamento combinado, três deles adaptaram-se a tal modelo (tratamentos 10, 16 e 18). Deixando de lado o tratamento 10, que tem baixo valor de Mtsd, pode-se dizer

Figura 22. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios-gama e azida sódica para o fator de mutações (Mtsd). Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.

que combinando tratamentos com 30 Krad com 1 ou 5 mM podem-se obter efeitos aditivos importantes e com valores relativamente altos de Mtsd nos tratamentos combinados. O restante dos tratamentos que não se adaptaram ao modelo aditivo, não se distanciam muito dele segundo seus valores de ECT, como anotado com detalhe no seguinte parágrafo.

Fazendo-se um resumo dos valores de ECT dos fatores de mutações, tem-se que o Msp teve o menor efeito aditivo (40,9) e o Mtsd o maior (93,7). Quanto aos tratamentos que reúnem os maiores efeitos aditivos, com altos valores para o fator de mutações (tratamento 18), sugeriram que a combinação de doses próximas de 15 Krad com 5 mM produzem efeitos aditivos vantajosos para o fator de mutações.

Tabela 12. Efeito de combinação de tratamento com raios-gama e SA sobre as frequências de mutações ao nível de panícula M_1 (Msp), ao nível de plântulas M_2 (Msd) e ao nível de mutantes/plântulas M_2 (Mtsd)

Tratamentos*	Msp	Msd	Mtsd	Médias
ECT(T_{10})=(T_2+T_9)	54,1	46,9	93,9	65,0
ECT(T_{11})=(T_4+T_9)	78,2	85,1	151,0	104,8
ECT(T_{13})=(T_2+T_{12})	43,9	38,5	71,1	51,2
ECT(T_{14})=(T_3+T_{12})	34,8	53,6	69,9	52,8
ECT(T_{15})=(T_4+T_{12})	24,8	36,9	63,2	41,6
ECT(T_{16})=(T_5+T_{12})	27,6	91,7	109,6	76,3
ECT(T_{18})=(T_3+T_{17})	41,6	77,9	145,2	88,2
ECT(T_{19})=(T_5+T_{17})	22,3	74,4	46,0	47,5
Médias	40,9	63,1	93,7	65,9

(*) Os tratamentos nomeados como T.. estão descritos no item 3.2.3.

4.5.3. Efeito sobre a eficiência mutagênica

4.5.3.1. Efeito sobre Msp/Dano

Tal como referido anteriormente no caso das eficiências não é possível aplicar o teste de X^2 para testar a adequação ao modelo aditivo. Todavia, segundo as Figuras 23 e 24, que mostram as eficiências Msp/Dano, não é necessário nenhum teste estatístico para saber que as eficiências dos tratamentos em separado não se somam nos tratamentos combinados. Mesmo assim, o índice ETC será usado para tecer algumas considerações. Na Tabela 13, constam os valores de ECT das eficiências Msp/Dano.

Tabela 13. Efeito de combinação de tratamento de raios-gama e SA sobre as eficiências mutagênicas Msp/I, Msp/L₁, Msp/L₂ e Msp/S.

Tratamento	Msp/I	Msp/L ₁	Msp/L ₂	Msp/S	Médias ²
ECT(T ₁₀)=(T ₂ +T ₉)	41,3	30,6	17,6	16,8	26,6
ECT(T ₁₁)=(T ₄ +T ₉)	29,8	83,3	47,4	11,6	43,0
ECT(T ₁₃)=(T ₂ +T ₁₂)	67,9	61,0	23,3	26,6	44,7
ECT(T ₁₄)=(T ₃ +T ₁₂)	-55,3	56,2	23,2	15,3	31,6
ECT(T ₁₅)=(T ₄ +T ₁₂)	14,6	26,8	14,4	13,3	17,3
ECT(T ₁₆)=(T ₅ +T ₁₂)	16,8	19,5	9,9	10,3	14,1
ECT(T ₁₈)=(T ₃ +T ₁₇)	-36,6	21,0	31,4	33,9	28,8
ECT(T ₁₉)=(T ₅ +T ₁₇)	16,4	9,3	10,9	16,8	13,4
Médias ²	31,1	38,5	22,3	18,1	27,4

- (1) Os tratamentos nomeados como T.. estão descritos no item 3.2.3.
 (2) No cálculo das médias não foram considerados os números negativos, porque são valores sem interpretação biológica.

Figura 23. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios-gama e azida sódica para eficiência mutagênica Msp/I e Msp/L₁. Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.

Figura 24. Efeito de tratamentos por separado e em combinação de raios gama e azida sódica para as eficiências Msp/L₂ e Msp/S. Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.

4.5.3.2. Efeito sobre a eficiência Msd/Dano

Os dados do ETC da eficiência Msd/Dano estão consig-nados na Tabela 14 e Figuras 25 e 26.

Tabela 14. Efeito de combinação de tratamento com raios-gama e SA sobre as eficiências mutagênicas Msd/I, Msd/L₁, Msd/L₂ e Msd/S.

Tratamento ¹	Msd/I	Msd/L ₁	Msd/L ₂	Msd/S	Médias ²
ECT (T ₁₀) = (T ₂ +T ₉)	37,7	26,3	15,0	14,8	23,0
ECT (T ₁₁) = (T ₄ +T ₉)	30,3	90,5	56,0	14,4	47,8
ECT (T ₁₃) = (T ₂ +T ₁₂)	63,7	57,8	22,7	23,2	41,9
ECT (T ₁₄) = (T ₃ +T ₁₂)	-74,5	85,3	35,6	23,5	48,1
ECT (T ₁₅) = (T ₄ +T ₁₂)	25,2	39,7	21,6	19,9	26,6
ECT (T ₁₆) = (T ₅ +T ₁₂)	53,6	59,8	33,4	34,7	45,4
ECT (T ₁₈) = (T ₃ +T ₁₇)	-194,2	43,3	59,8	60,6	54,6
ECT (T ₁₉) = (T ₅ +T ₁₇)	55,9	32,9	36,5	56,4	45,4
Médias ²	44,1	54,4	35,1	31,0	41,6

(1) Os tratamentos nomeados como T.. estão descritos no item 3.2.3.

(2) No cálculo das médias não foram considerados os números negativos, porque são valores sem interpretação biológica.

Pode-se observar que o Msp/S é a eficiência que teve o menor índice de aditividade, e lembrado a importância da esterilidade, os tratamentos utilizados no presente trabalho não conseguiram amenizar tal dano.

Pode-se perceber que, em termos gerais, existiu pouca adaptação dos dados para um modelo aditivo, todavia, com ligeira melhora com relação a Msp/Dano, pois teve-se uma média geral de ECT de 41,6 contra 27,4 no caso anterior.

Figura 25. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios gama e azida sódica para as eficiência Msd/I e Msd/L₁. Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.

Figura 26. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios gama e azida sódica para as eficiência Msd/L₂ e Msd/S. Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.

4.5.3.3. Efeito sobre a eficiência mutagênica Mtsd/Dano

As Figuras 27 e 28 consignam as informações das eficiências Mtsd/danos e a Tabela 15 os dados de ECT, respectivamente.

Pode-se verificar que a eficiência Mtsd/Dano, em termos gerais, tampouco respondeu a um modelo aditivo, todavia, de acordo com a Tabela 15, ela tem um ECT médio superior à eficiência Msd/Dano, sugerindo que as eficiências em que estão envolvidas o número de mutantes, tem maior aditividade que aquelas que envolvem o número de mutações.

Assim, pode-se verificar que no estudo da aditividade de tratamentos individuais, foram verificados altos valores em alguns casos, como nos tratamentos 11 e 13, que se destacam por uma sobre-aditividade para Mtsd/I e Mtsd/L₁, e com a vantagem de possuir os maiores valores de eficiência Mtsd/L₂ (tratamento 11) e Mtsd/L₁ (tratamento 13). Entretanto, a eficiência Mtsd/L₂ só acompanhou o desempenho das outras duas eficiências no caso do tratamento 11, constituindo-se na maior eficiência Mtsd/S; já, no caso do tratamento 13, a eficiência para S foi relativamente baixa.

Quanto aos ECT das eficiências Mtsd/Danos, pode-se observar que, em termos médios, eles diferiram mais entre si, comparativamente aos resultados de Msd/Dano e Msp/Dano, já abordados linhas atrás. Existiu um certo destaque da aditividade para Mtsd/L₁ e Mtsd/I, embora como foi dito, não se conseguisse ajustar a um modelo aditivo.

Figura 27. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios gama e azida sódica para as eficiência Mtsd/I e Mtsd/L₁. Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.

Figura 28. Efeito de tratamentos individuais e em combinação de raios gama e azida sódica para as eficiência Mtsd/L₁ e Mtsd/S. Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.

Tabela 15. Efeito de combinação de tratamentos de raios-gama e SA sobre as eficiências Mtsd/I, Mtsd/L₁, Mtsd/L₂ e Mtsd/S.

Tratamento ¹	Mtsd/I	Mtsd/L ₁	Mtsd/L ₂	Mtsd/S	Médias ²
ECT(T ₁₀)=(T ₂ +T ₉)	71,2	50,6	27,3	31,4	45,1
ECT(T ₁₁)=(T ₄ +T ₉)	42,5	145,5	103,7	30,5	80,6
ECT(T ₁₃)=(T ₂ +T ₁₂)	114,9	104,2	40,5	42,9	75,6
ECT(T ₁₄)=(T ₃ +T ₁₂)	-41,5	96,5	44,2	31,4	57,3
ECT(T ₁₅)=(T ₄ +T ₁₂)	33,7	62,1	37,7	35,1	42,2
ECT(T ₁₆)=(T ₅ +T ₁₂)	59,4	61,1	41,0	43,5	51,3
ECT(T ₁₈)=(T ₃ +T ₁₇)	-67,2	46,8	72,1	79,8	66,2
ECT(T ₁₉)=(T ₅ +T ₁₇)	31,1	16,0	22,4	34,8	26,1
Médias ²	58,8	72,9	48,6	41,2	55,6

(1) Os tratamentos nomeados como T.. estão descritos no item 3.2.3.

(2) No cálculo das médias não foram considerados os números negativos, porque são valores sem interpretação biológica.

Com referência ao efeito médio de combinação das eficiências Mtsd/Danos (Tabela 15), destacaram-se os tratamentos 11 e 13, sugerindo que doses de 10 a 20 Krad de raios-gama combinados com concentrações de 0,5 e 1mM, resultam na obtenção de melhores efeitos de aditividade de eficiências Mtsd/Dano. Todavia, seria interessante testar outras concentrações de SA, mais próximas a 1,0 mM e menores que 5,0 mM.

4.6. Efeitos dos tratamentos mutagênicos sobre a média e a variância de alguns caracteres agronômicos em plantas da geração M₂.

Os efeitos dos tratamentos com raios-gama e SA individualmente e em combinação foram observados nos caracteres comprimento do colmo (CC), dias até o início de

floração (DIF) e número de perfilhos (NP) em sete populações M_2 (Ver detalhe em 3.2.5.3.).

A análise de variância da geração M_2 , para todos os caracteres, não revelou nenhum efeito dos tratamentos detectáveis pelo teste de F (Tabela 16). Isto quer dizer que as diferenças das médias entre a testemunha e os tratamentos são negligíveis. Isto é interessante porque indica que a média não foi afetada pelos tratamentos mutagênicos, apesar que algumas modificações foram experimentadas, como será visto no item seguinte. É o que geralmente ocorre com a maioria dos caracteres quantitativos; todavia, JÁNA E ROY (1973), acharam uma média significativamente menor para número de perfilhos em um tratamento com EMS, em arroz. Também OKA et al. (1958), mostraram que não houve mudanças significativas na média de altura de planta e número de dias até a floração em 4 gerações derivadas do tratamento com raios X.

Os coeficientes de variação de baixa magnitude, obtidos em todas as características avaliadas, indicam que a precisão do experimento foi boa.

Tabela 16. Variâncias, médias e coeficiente de variação (CV) de 3 caracteres avaliadas na geração M_2 originados do tratamento de raios-gama e azida sódica. Arroz, Piracicaba-SP, 1992.

Fonte de Variação	G.L.	Comprimento do colmo (cm)	Dias a início de floração	Número de panículas
Repetição	2	3,08 ^{ns}	0,49 ^{ns}	0,03 ^{ns}
Tratamentos	6	9,08 ^{ns}	1,69 ^{ns}	0,30 ^{ns}
Resíduo	12	6,18	1,02	0,37
Médias		81,37	101,45	6,65
C.V. (%)		3,05	0,10	9,35

4.6.1. Efeito na média dos caracteres avaliados.

Na Tabela 17 são consignadas algumas informações mais detalhadas sobre as médias dos tratamentos, desvio padrão, amplitude, os CV e a eficiência relativa dos tratamentos mutagênicos.

Percebe-se que a variação porcentual em relação ao controle foi mínima e o desvio-padrão das médias também foram pequenos. É interessante notar que a amplitude (MIN-MAX) foi incrementada em alguns dos tratamentos. Assim, o tratamento 11 destaca-se no limite inferior de CC, quanto a DIF, embora exista uma grande tendência em aumentar o máximo; destaca-se o tratamento 9 com limite inferior um tanto diferente do controle. O NP é uma característica que, quanto à amplitude, não experimentou qualquer mudança importante. Outro aspecto a salientar é que os tratamentos combinados (tratamentos 10 e 11) tenderam a obter maiores amplitudes para CC e DIF, com uma tendência a diminuir o mínimo no CC e a aumentar o máximo em DIF.

Quanto aos CV, pode-se notar que aumentaram o seu valor quando calculados a partir de informações de plantas individuais em comparação a os CV comentados no item anterior, que foram calculados a nível de médias. Mesmo elevados de valor, os CV de CC e DIF continuaram sendo de baixa magnitude, indicando uma boa aproximação das médias. Não acontece o mesmo com o NP, que atinge um valor alto, restando precisão à média, o que também é refletido nos altos desvios-padrão desta característica.

Tabela 17. Média, desvio padrão (dp), coeficiente de variação relativo (CVt/CVñt) e amplitude para três caracteres quantitativos na geração M₂, descendente do cultivar de arroz IAC-1246 irradiado e tratado com SA. Piracicaba-SP, 1992.

Tratamento	média +dp	% da controle	C.V.(%)	CVt/CVñt	Valores MIN-MAX
Comprimento do colmo					
T1	80,58+7,77	100	9,74	1,0	55-100
T2	81,59+7,59	101	9,22	0,95	55-103
T4	82,30+8,72	102	9,80	1,01	51-102
T6	84,48+7,32	105	9,62	0,99	43-102
T9	78,38+9,57	99	11,12	1,14	47-102
T10	81,61+8,79	101	10,92	1,12	45-106
T11	79,66+9,61	99	11,66	1,20	38-104
Número de dias até início de floração					
T1	101,02+3,45	100	2,91	1,00	92-100
T2	102,33+4,30	101	4,38	1,50	93-123
T4	101,94+4,00	101	3,88	1,33	88-120
T6	101,35+3,24	100	3,41	1,17	94-126
T9	102,39+4,28	101	4,12	1,42	93-138
T10	100,49+3,83	99	4,02	1,38	91-131
T11	100,73+4,57	100	3,85	1,32	91-141
Número de perfilhos					
T1	6,28+2,59	100	44,06	1,00	1-18
T2	6,51+2,66	104	40,33	0,91	1-15
T4	6,59+2,72	105	41,68	0,95	1-20
T6	7,27+2,90	116	38,21	0,87	1-18
T9	6,72+2,60	107	39,18	0,89	1-20
T10	6,73+2,65	107	40,82	0,93	1-20
T11	6,43+2,70	102	41,89	0,95	1-17

Quanto aos CV relativos dos diferentes tratamentos, o NP teve valores inferiores a um, indicando um decréscimo da variância. Com relação ao CC estes mostraram valores superiores a um, indicando um incremento da variância, que em magnitude, é, todavia, inferior ao verificado no DIF.

4.6.2. Efeito dos tratamentos mutagênicos na variância dos caracteres avaliados

O aumento na variância das populações tratadas é um indicador da eficiência do tratamento mutagênico em induzir variabilidade genética. Todavia, a variância medida na geração M_2 envolve a variância genética e a variância ambiental, o que limita as inferências desses dados. Nesse sentido AASTVEIT (1967) afirmou que as famílias M_2 não são convenientes para experimentos de estudos de variabilidade e que mais confiáveis são os resultados quando obtidos pelo uso de gerações mais avançadas.

Por estas considerações, no presente trabalho, não foram calculados parâmetros genéticos com os dados da geração M_2 , porque além das limitações anotadas, juntam-se os problemas de amostragem referidos no capítulo de material e método. Mesmo assim, foram calculados os testes de "F", assim como a variância devida aos tratamentos mutagênicos (Tabela 18).

Verificou-se que os tratamentos mutagênicos utilizados foram eficientes em incrementar a variância de CC e DIF e não para NP, tendo sido neste último, até contraproducentes, como medido pelos incrementos negativos da variância.

Nos tratamentos com eficiência sem incremento da variância não se pôde perceber, de maneira clara, a superioridade da combinação de tratamentos sobre o desempenho individual.

No experimento da geração M_2 , delineado para medir a variação induzida em caracteres quantitativos por trata-

Tabela 18. Variâncias fenotípicas, variâncias residuais, teste de "F" (V_t/V_{nt}) e variâncias devidas ao tratamento mutagênico (St^2), estimadas para três caracteres quantitativos, na geração M_2 , descendente do cultivar de arroz IAC-1246 irradiado e tratado com SA. Piracicaba-SP, 1992

Número de Tratamento	Variância Fenotípica	Variância residual	V_t/V_{nt}	St^2
Cumprimento do colmo				
T1	61,21	61,62	1,00	-
T2	62,94	65,56	1,03ns	3,94
T4	68,75	65,06	1,12ns	3,44
T6	61,92	66,10	1,01ns	4,48
T9	82,50	77,89	1,35***	16,27
T10	78,70	79,40	1,29**	17,78
T11	88,33	86,26	1,44***	24,64
Número de dias ao início de floração				
T1	9,72	8,64	1,00	-
T2	19,52	20,04	2,01***	11,40
T4	15,79	15,67	1,62***	7,03
T6	10,48	11,93	0,88ns	0,76
T9	17,98	17,83	1,85***	9,19
T10	15,76	16,34	1,62***	7,70
T11	17,00	15,04	1,76***	6,40
Número de perfilhos				
T1	7,35	7,65	1,00	-
T2	6,95	6,89	0,95ns	-0,76
T4	7,50	7,56	1,02ns	-0,09
T6	7,94	7,72	1,08ns	0,07
T9	6,89	6,94	0,94ns	-0,71
T10	7,38	7,55	1,00ns	-0,10
T11	7,27	7,27	0,99ns	-0,38

mentos combinados de radiação gama e azida sódica, reconheceu-se o potencial destes tratamentos para induzir mudanças em caracteres quantitativos em arroz. Foram favoráveis para incrementar a variância em CC e DIF, mantendo a média sem diferenças significativas.

Todavia, não incrementaram a variância de NP, contribuindo, ao contrário, com uma tendência a decaimento,

embora não detectada no teste de "F". Isto também pode acontecer quando se tenta incrementar a variância de uma variedade com alta capacidade de perfilhamento, o que aconteceu com GOUD (1967). Este conseguiu incrementar as amplitudes de variedades de trigo com baixo e médio perfilhamento e nenhum tratamento mutagênico aumentou a amplitude de variedades com alta capacidade de perfilhamento.

Como os efeitos nas características dão-se simultaneamente, é importante considerar os ganhos na variância em CC e DIF, junto com o estancamento na variabilidade em NP, que podem diminuir o progresso genético por seleção.

Utilizando o mesmo critério de "F" entre as variâncias dos tratamentos combinados, em relação às variâncias dos tratamentos que compõem a combinação, alguns resultados interessantes foram encontrados (Tabela 19). A variância de tratamentos combinados de aquela obtida nos tratamentos individuais nos caracteres NDF e NP.

No caso do CC, a variância do tratamento combinado 10 (10 Krad + 0,5 mM (SA) foi significativamente maior que a do tratamento individual de 10 Krad, todavia, não foi diferente com a variância obtida por 0,5 mM de SA. Também o tratamento combinado 11 (20 Krad + 0,5mM SA) teve uma variância significativamente maior que a conseguida com o tratamento individual 20 Krad, embora não foi diferente à variância de 0,5 mM de SA.

Tabela 19. Teste de "F" (V_t/V_{nt}) entre as variâncias de tratamentos individuais e em combinação estimadas para três caracteres na geração M_2 , originadas da variedade de arroz IAC-1246 irradiado e tratado com SA. Piracicaba-SP, 1992

Número de Tratamento*	Variância Fenotípica	F**
Cumprimento do colmo		
$T_2=10$ Krad	62,94	78,50/62,94=1,25**
$T_9=0,5$ m(SA)	82,50	78,50/82,50=0,95 ^{ns}
$T_{10}=T_2+T_9$	78,50	
$T_4=20$ Krad	68,75	88,33/68,75=1,28**
$T_9=0,5$ mM SA	82,50	88,33/82,50=0,94 ^{ns}
$T_{11}=T_4+T_9$	88,33	
Número de dias até o início de floração		
$T_2=10$ Krad	19,52	15,76/19,52=0,81 ^{ns}
$T_9=0,5$ mM(SA)	17,98	15,76/17,98=0,88 ^{ns}
$T_{10}=T_2+T_9$	15,76	
$T_4=20$ Krad	15,79	17,00/15,79=1,08 ^{ns}
$T_9=0,5$ mM SA	17,98	17,00/17,98=0,94 ^{ns}
$T_{11}=T_4+T_9$	17,00	
Número de perfilhos		
$T_2=10$ Krad	6,25	7/38/6,95=1,06 ^{ns}
$T_9=0,5$ mM(SA)	6,89	7/38/6,89=1,07 ^{ns}
$T_{10}=T_2+T_9$	7,38	
$T_4=20$ Krad	7,50	7,27/7,50=0,97 ^{ns}
$T_9=0,5$ mM SA	6,89	7,27/6,89=1,05 ^{ns}
$T_{11}=T_4+T_9$	7,27	

(*) Os tratamentos estão descritos no item 3.2.3.

(**) Os valores de F superiores a 1,1575 são significativos ao nível de 0,05 de probabilidade.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos do presente trabalho permitem apresentar as seguintes conclusões:

1. A eficiência mutagênica da azida sódica é muito superior aos raios gama.
2. Entre os mutantes de clorofila induzidos, albina constitui a classe majoritária.
3. Na combinação de mutagênicos, os raios gama quase sempre são favorecidos, incrementando-se a sua eficiência, e, ao contrário, não acontece com a azida sódica.
4. A combinação de mutagênicos ocasiona decréscimo da eficiência da azida sódica, quando o fator de mutação considerado é mutações ao nível de panículas ou ao nível de plântulas M_2 .
5. A eficiência mutagênica da combinação de mutagênicos só mostra superioridade em relação à azida sódica quando o fator de mutação considerado é mutantes ao nível de plântulas M_2 .
6. O espectro de mutações de raios gama e de azida sódica são muito similares, quanto a tipos diferentes de mutações.

7. O espectro de mutações é diferente, quanto a frequência por tipo de mutação, para cada mutagênico individual, assim como, no tratamento combinado.
- 8) Nos tratamentos combinados, os efeitos danosos mostram alto efeito aditivo, com maior ênfase na redução da altura de plântula e esterilidade; ao contrário, a eficiência mostra-se pouco aditiva com algum destaque para a eficiência referida a mutantes ao nível de plântulas M_2 /Danos nas plantas M_1 .
9. O índice de eficiência proposto Fator de mutações $(1 - \text{Dano}/100)$ resolve as dificuldades surgidas para alguns casos na aplicação das fórmulas de KONZAK (1965).
10. Os tratamentos mutagênicos são eficientes para incrementar a variância na geração M_2 dos caracteres comprimento do colmo e dias até o início de floração, porém não tem sucesso com número de perfilhos.
11. O tratamento combinado de raios-gama e SA mostram variância maior para comprimento do colmo, que aquela correspondente ao tratamento individual dos raios-gama, não sendo superior ao correspondente a SA
12. O tratamento combinado de raios-gama e SA não incrementa a variância de dias ao início de floração nem de número de perfilhos, quando comparado ao correspondentes tratamentos individuais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AASTEVEIT, K. Effects of combinations of mutagens on mutation frequency in barley. In: IAEA/FAO. **Mutation in Plant Breeding II**. Viena, IAEA, 1967. p.5-14.
2. ALLARD, R.W. **Princípios de melhoramento genético das plantas**. São Paulo, Edgard Blücher Ltda., 1960. 536P.
3. ANDO, A. Efeito biológicos de combinação de tratamento com raios gama, cisteína e algumas substâncias alquilantes sobre sementes de arroz. Piracicaba, 1970. 117p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP)
4. ANDO, A. & VENCOSKY, R. The effect of irradiated on polygenically inherited characters in *Nicotiana tabacum* in relation to selection after treatment of aged seeds. **Mutation Research**, Amsterdam, **4**: 605-14, 1967.
5. ANDO, A. Apontamentos de aula da disciplina "Efeitos biológicos das radiações". Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP. 100p. 1991.
6. ARAÚJO, J.P.P. Análise genética da variação induzida por radiação gama em caracteres quantitativos de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Piracicaba, 1987. 192p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP)
7. AWAN, A.M., KONZAK, C.F., RUTGER, J.N. & NILAN, R.A. Mutagenic effects of sodium azide in rice. **Crop Science**, Madison, **20**: 663-68, 1980.

8. BHAN, A.K. & KAUL, M.L.H. Frequency and spectrum of chlorophyll-deficient mutations in rice after treatment with radiation and alkylating agents. **Mutation Research**, Amsterdam, **36**: 311-318, 1976.
9. BRIGGS, R., W., Radiation types and sources. In: FAO/IAEA. **Manual on Mutation Breeding**. IAEA, Vienna, 1970. p.9-20.
10. DOLL, H. & SANDEFAER, J. Mutagenic effect of gamma-rays, diethyl sulphate, ethyl methanesulphonate, and various combinations of gamma-rays and the chemicals. In: FAO/IAEA. **Induced Mutations in Plants**. Vienna, IAEA, 1969. p.195-206.
11. DONINI, B., KAWAI T. & MICKE, A. Spectrum of mutant characters utilized in developing improved cultivars. In: FAO/IAEA. **Selection in Mutation Breeding**. Vienna, IAEA, 1984. p.7-31.
12. EHRENBURG, L., LUNDQUIST, U. & ESTRÖM, G. The mutagenic action of ethyleneimine in barley. **Hereditas**, Berlin, **44**(2-3):330-336, 1958.
13. EMERY, D.A. & WYNNE, J.C. Systematic selection for increased fruit yield in populations derived from hybridization only, F₁, irradiation, and hybridization following parental irradiation in peanuts (*Arachis hypogea* L.). **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, **16**: 1-8, 1976.
14. FEHR, W., R. Mutation breeding. In: FEHR, W.R. **Principles of cultivar development**. New York, Macmillan Publishing, 1987. cap. 20, p.287-297.
15. FREEMAN, D.H. **Applied categorical data analysis**. New York, Marcel Dekker, 1987. 318p.

16. GAUL, H Critical analysis of the methods for determining the mutation frequency after seed treatment with mutagens. **Genética Agraria**, Roma, 12(1-2): 297-318, 1960.
17. GAUL, H.; FRIMMEL, G.; GIGHNER, T.; ULONSKA, E. Efficiency of mutagenesis. In: FAO/IAEA. **Induced mutation and plant improvement**. Viena, IAEA/FAO, 1972. p.121-39.
18. GAUL H. Plant injury and lethality. In: FAO/IAEA. **Manual on Mutation Breeding**. Viena, FAO/IAEA, 1977. p.87-90.
19. GOUD, J.V. Induced poligenic mutations in hexaploid wheats. **Radiation Botany**, Oxford, 7(3):321-31, 1967.
20. GUIMARÃES, E.P. Estudos da sensibilidade de sementes de arroz (*Oriza sativa* L.) à radiação gama, nêutrons, sulfato de dietila (DES) e azida sódica. Piracicaba, 1978. 99p. (Mestrado.- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP)
21. GUIMARÃES, E.P. E ANDO, A. Efeitos da aplicação dos mutagênicos azida sódica e radiação gama em sementes de arroz. **Ciência e Cultura**, São Paulo, 32(5):619-22, 1980.
22. GUSTAFSSON, A. & GADD, I Mutations and crop improvement VII. The genus *Oryza* L. (Gramineae). **Hereditas**, Sweden, 55: 273-357, 1966.
23. JANA, M.K. & ROY, K. Induced quantitative mutation in rice. **Radiation Botany**, Oxford, 13: 245-57, 1973.
24. JOSHI, S.N. & FREY, K.J. Genetic variability in oats from recurrent and alternate treatment with physical and

chemical mutagens. **Radiation Botany**, Oxford, 7: 513-20, 1967.

25. KAUL, M.L.H., BHAN, A., K. Mutagenic effectiveness and efficiency of EMS, DES, and Gamma-rays in rice. **Theoretical and Applied Genetics**, Londres, 50: 241-46, 1977
26. KAWAI, T. Relative effectiveness of physical and chemical mutagens. In: FAO/IAEA. **Induced Mutations in Plants**. Viena, IAEA, 1969. p.137-152.
27. KAWAI T. Radiation breeding - 25 years and further on. **Gamma Field symposia**, Japan. 25: 1-36, 1986.
28. KONZAK, C.F.; NILAN, R.A.; WAGNER, J. & FOSTER, R.J. Efficient chemical mutagenesis. In: FAO/IAEA. **The use induced mutations in plant breeding**. IAEA, Roma, Pergamon Press, 1965. p 49-70.
29. KUMAR, D. Studies on ^{60}Co gamma-ray induced variability in common wheat cultivar K 68. **Egyptian journal of genetics and cytology**, Egito, 6(2): 229-43, 1977.
30. MATSUO, T.; YAMAGUCHI, M. Review of research of radiation induced mutations in agriculture breeding in Japan. **Euphytica**, Holanda, 11: 245-55, 1962
31. MATSUO, T. & OZONAWA, Y. Studies on mutations induced by radiation and chemicals. **Japanese journal of breeding**, 10: 223-27, 1960.
32. MIAH, A., J.; AWAM M., A., Induced mutations in rice. In: FAO/IAEA. **Rice Breeding with induced mutations**. Viena, IAEA, 1971. p.77-89.

33. MIAH, A.J. & BHATTI, I.M. Evolution of new rice varieties by induced mutations to increase yield and resistance to diseases and to improve seed quality. In: FAO/IAEA. **Rice Breeding with induced mutations**. Viena, IAEA, 1968. P.75-96.

34. MICKE A. Factors influencing mutant spectrum and the quality of mutations In: FAO/IAEA. **Manual on mutation breeding**. Viena, IAEA, 1970. p.126-128.

35. MICKE, A.; DONINI & B. MALUSZINSKY, M. Les mutations induites en amelioration des plants. **Mutations Breeding review**, Viena, 9, 44p, 1993

36. MICKE, A.; MALUSZINSKY, M.; DONINI, B. Plants cultivars derived from mutation induction or the use of induced mutants in cross breeding. **Mutation Breeding Review**, Viena (3):1-92, 1985.

37. MIKAESEN, K, KARUNAKARAM, K. & KISS, I.S. Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma-rays, fast neutrons and ethyl, methyl methano sulphonate in rice. In: FAO/IAEA. **Rice breeding with induced mutations III**. Viena, IAEA, 1971. p.91-96.

38. MIKAESEN K. KISS & OSONE K. Some effects of fast neutrons and gamma radiation on rice. In: FAO/IAEA. **Neutrons irradiation of seeds II**. Viena, IAEA, 1968. p.49-54.

39. MORSI, L.R., ABO-ELENEIN, R., A., MAHMOUD, I., M., Studies on the induction of new genetic variability for quantitative traits by gamma-rays and N-nitroso-N-Methyl-urethane in barley. **Egyptian Journal of Genetics and Cytology**, Egito, 6(2): 244-58, 1977.

40. NILAN R.A., KONZAK, C.F., WAGNER J. & LEGAULT R.R.
Effectiveness and efficiency of radiations for inducing genetic and cytogenetic changes. In: FAO/IAEA. **The use of induced mutations in plant breeding**. Roma, Pergamon Press, 1965. p.71-89.
41. OJOMA O.A. & CHHEDA H.R. The variation for some characters in cowpeas *Vigna unguiculata* (L), following ionizing radiation. **Radiation Botany**, Oxford, **12**: 373-80, 1972.
42. OKA, H.I., HAVASHI, J. & SHIOJIRI I. Induced mutation on polygenes for quantitative characters in rice. **The Journal of Heredity**, Washington, **49**:11-4, 1958.
43. PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 12^a. edição. Piracicaba-São Paulo, 1987, 467p.
44. RAO, D., R., M. Relative effectiveness and efficiency of single and combination treatments using gamma-rays and sodium azide in inducing chlorophyll mutations in rice. India. **Cytologia**, Tokio, **42**: 443-450, 1977.
45. RAO, M.G., & RAO, V. M. Mutagenic efficiency, effectiveness and factor of effectiveness of physical and chemical mutagens in rice. India. **Cytologia** **48**: 427-436, 1983.
46. RAWLING J.O.; HANWAY, D.G.; GARDNER, C.O. Variation in quantitative characters of soybean after seed irradiation. **Agronomy Journal**, Madison, **50**: 524-28, 1958.
47. REDDI T.V.V.S. & RAO D., R., M. Relative effectiveness and efficiency of single and combination treatment using Gamma-Rays and Sodium Azide in inducing chlorophyll

- mutation in rice. Department of botany, Andhra University, **Cytologia**: 53: 491-98, 1988.
48. REDDI, S. & REDDI, V.R. Frequency and spectrum of chlorophyll mutants in the seed in rice by chemical mutagens. **Theoretical and Applied Genetics**, Londres, **67**: 231-233, 1984.
49. REDDI, S.T.V.V. & SUNEETHA J. Chlorophyll-deficient mutations induced in rice by alkylating agents and azide. **Cytologia**, Tokio, **57**: 285-288, 1992.
50. RUBAIHAYO, P.R. Utilization of gamma-rays for soybean improvement. **Egyptian Journal of Genetics and Cytology**, Egito **5**(1): 136-40, 1976.
51. SANDER, C. & MUEHLBAUER, F.J. Mutagenic effects of sodium azide irradiation in Pisum. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, **17**: 43-47, 1977.
52. SCOSSIROLI, R.E. Mutations in characters with continuous variation. In: FAO/IAEA. **Manual on mutation breeding**. Viena, IAEA, 1970. Technical Report Series, p.117-23.
53. SHARMA, S.K. & SHARMA B. Pattern of induced macro and micro-mutations with gamma-rays in lentil. **Environment and Experimental Botany**, Oxford, **24**(4): 343-51, 1984.
54. SIDDIQ, E., A & SWAMINATHAN. Induced mutation in relation to the breeding and phylogenetic differentiation of *Oryza sativa*. **Technical Report Series**, IAEA, **86**: 25-51, 1968.
55. SIGURBJÖRNSSON, B. Mutation in plant breeding programmes. In: **Manual on mutation breeding**. 2nd. ed. Viena, IAEA, 1977. p 1-6.

56. SIGURBJÖRNSSON, B Induced Mutations. In: WOOD D.R. Ed. **Crop breeding**. Madison, USA, American Society of Agronomy, 1983. p.153-173.
57. STEAGALL, M., L, Sensitividade à radiação gama de diferentes populações de milho. Piracicaba, 1977. 149p. (Mestrado - Escola superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).

APÊNDICE

Tabela 20. Valores do teste de Z^* da sobrevivência aos 14 dias de plântulas M_1 originada do tratamento com raios-gama e azida sódica em arroz

Tat*	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	1,0	0,9	2,0	1,2	0,9	1,4	2,0	1,9	2,7	0,9	5,5	2,6	2,4	4,4	6,0	9,8	12,1	14,8
2		-0,2	1,0	0,2	-0,2	0,4	1,0	0,9	1,7	0,8	4,5	1,6	1,4	3,4	5,0	8,8	11,3	14,3
3			1,1	1,3	0,0	0,6	1,2	1,1	1,7	1,0	4,6	1,8	1,5	3,6	5,2	9,0	11,4	14,4
4				-0,8	-1,2	-0,6	0,0	-0,1	0,7	-1,2	3,5	0,6	0,4	2,4	4,1	7,9	10,4	13,7
5					-0,3	0,2	0,8	0,8	1,5	0,7	4,3	1,4	1,2	3,2	4,9	8,7	11,1	14,2
6						0,6	1,2	1,1	1,9	1,0	4,6	1,8	1,5	3,6	5,2	9,0	11,4	14,4
7							0,6	0,5	1,3	0,4	4,1	1,2	0,9	2,1	4,6	8,5	10,9	14,0
8								-0,1	0,7	-0,2	8,5	0,6	0,4	2,4	4,1	7,9	10,4	13,7
9									0,7	-0,1	8,6	0,7	0,4	2,5	4,1	8,0	10,5	13,8
10										-0,9	2,8	-0,1	-0,3	1,7	3,4	7,3	9,9	13,3
11											3,7	0,8	0,5	2,6	4,2	8,1	10,6	13,8
12												-2,9	-3,1	-1,1	0,6	4,6	7,4	11,6
13													-0,2	1,8	3,5	7,4	9,9	13,9
14														2,0	3,7	7,6	10,2	13,5
15															1,7	5,7	8,4	12,3
16																4,1	6,9	11,3
17																	3,0	8,4
18																		5,1

(*) Valores de Z maiores que 3,61 são significativos ao nível de 0,05 de probabilidade
 (**) Os tratamentos foram descritos em 3.2.3.

Tabela 21. Valores do teste de Z* da sobrevivência à maturidade de plantas M₁ originada do tratamento com raais gama e azida sódica em arroz.

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	0,36	1,1	4,0	4,5	0,0	1,9	2,7	1,9	5,0	3,1	2,2	2,9	3,6	4,8	7,0	4,9	5,4	9,3
2		0,8	3,8	4,3	-0,3	1,6	2,4	1,7	4,8	2,8	2,2	2,5	3,4	4,6	6,9	4,7	5,2	9,1
3			3,0	3,6	-1,0	0,8	1,6	0,9	4,1	2,1	1,5	1,8	2,6	3,8	6,3	4,0	4,5	8,7
4				0,6	-4,0	-2,2	-1,4	-1,9	1,2	-0,8	-1,4	-1,0	-0,4	0,8	3,9	1,2	1,6	6,8
5					-4,5	-2,7	-2,0	-2,4	0,7	-1,3	-2,0	-1,5	-1,0	0,2	3,4	0,6	1,1	6,3
6						1,8	2,8	1,9	5,0	3,0	2,5	2,7	3,6	4,7	7,0	4,9	5,4	9,2
7							0,8	0,2	3,3	1,3	0,7	1,0	1,8	3,0	5,6	3,2	3,7	8,1
8								-0,6	2,6	0,6	-0,1	0,3	1,0	2,2	5,1	2,5	3,0	7,7
9									3,0	1,1	0,5	0,8	1,5	2,6	5,3	2,9	3,4	7,9
10										-1,6	-2,5	-2,14	-1,0	-0,4	2,8	-0,0	0,4	5,8
11											-0,6	-0,2	0,4	1,5	4,5	1,9	2,3	7,2
12												0,4	1,0	2,2	5,0	2,5	3,0	7,6
13													0,6	1,8	4,6	2,1	2,5	7,3
14														1,2	4,3	1,6	2,0	7,0
15															3,3	0,4	0,9	6,2
16																-2,8	-2,9	3,1
17																	0,4	5,8
18																		5,5

(*)Valores de Z maiores que 3,61 são significativos ao nível de 0,05 de probabilidade
 (**) Os tratamentos foram descritos em 3.2.3.

Tabela 22. Valores do teste de Z^* da fertilidade de plantas M_1 originada do tratamento com raios-gama e azida sódica em arroz.

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	15,7	32,9	34,9	46,2	0,1	32,6	53,0	5,2	18,0	40,9	25,8	32,9	50,0	33,3	45,4	69,7	49,9	26,3
2		17,5	19,2	33,7	-15,0	17,0	40,3	-11,0	2,8	25,1	4,8	17,0	35,4	21,1	38,0	47,7	42,1	24,8
3			1,9	18,4	-32,5	-0,6	24,8	-29,4	-14,5	7,3	-15,3	-0,7	18,4	6,0	27,9	25,7	31,6	22,5
4				17,1	-34,4	-2,2	23,8	-31,4	-16,2	5,8	-17,2	-2,3	17,0	4,7	27,0	24,0	30,7	22,2
5					-45,8	-19,0	5,8	-43,5	-31,1	-12,0	-32,7	-19,2	-1,4	-11,4	14,3	1,8	17,3	19,1
6						32,1	52,7	5,0	17,7	40,4	25,1	32,4	49,5	33,0	45,2	68,7	49,7	26,3
7							25,5	-29,1	-14,0	8,0	-14,8	-0,1	19,1	6,6	28,3	26,6	32,0	22,6
8								-50,4	-37,6	-18,4	-39,7	-25,7	-7,6	-17,3	9,9	-5,1	12,8	17,9
9									14,2	37,5	20,5	29,3	46,9	30,6	43,7	65,5	48,2	26,0
10										22,1	1,4	14,0	32,4	18,6	36,4	43,5	40,4	24,5
11											-23,7	-8,2	11,4	-0,5	23,5	17,3	27,0	21,4
12												14,8	34,7	19,3	37,0	49,2	41,3	24,4
13													19,3	6,7	28,5	27,0	32,2	22,6
14														-10,7	15,7	3,7	18,9	19,9
15															22,7	15,6	26,0	21,4
16																-14,3	2,2	14,9
17																	17,6	18,9
18																		14,2

(*)Valores de Z maiores que 3,61 são significativos ao nível de 0,05 de probabilidade
 (**) Os tratamentos foram descritos em 3.2.3.

Tabela 23. Valores do teste Z^* da frequência de mutações de clorofila Msp, originada do tratamento de raios-gama e azida sódica em arroz.

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	-5,2	-4,1	-4,3	-4,5	-0,1	-4,6	-5,2	-7,2	-5,7	-6,2	-8,6	-7,2	-7,1	-7,4	3,7	-8,7	-7,2	-5,6
2		3,4	2,3	1,9	5,1	1,7	0,0	-8,1	-1,7	-3,5	-15,8	-8,1	7,9	-6,9	-6,2	-15,6	-8,0	-1,7
3			-0,7	-1,1	4,0	-1,5	-3,1	-10,1	-4,6	-6,3	-16,0	-10,2	-10,0	-5,6	-5,2	-15,9	-10,1	-3,6
4				-0,3	4,3	-0,7	-2,2	-8,6	-3,6	-5,1	-13,9	-8,7	-8,4	-5,1	-4,8	-13,8	-8,6	-3,0
5					4,4	-0,4	-1,8	-8,0	3,2	-4,7	-13,1	-8,1	-7,8	-6,2	-6,3	-13,1	-8,0	-2,8
6						-4,6	-5,1	-7,1	-5,6	-6,1	-8,5	-7,1	-7,0	-5,4	-4,9	-8,6	-7,1	-5,5
7							-1,6	-8,7	-3,1	-4,8	-14,9	-8,8	-8,5	-3,7	-3,5	-14,8	-8,6	-2,6
8								-7,0	-1,5	-3,17	-13,2	-7,1	-6,8	3,9	2,2	-13,2	-7,0	-1,7
9									5,3	3,9	-8,0	-0,2	0,6	-2,4	-2,1	-11,4	-0,2	1,9
10										-1,6	-11,4	-5,4	-5,0	-1,9	-10,6	-10,6	-5,3	-0,8
11											-10,7	-4,0	-3,5	-0,3	-0,8	-0,4	-3,9	0,1
12												7,6	9,3	11,9	7,9	-7,5	7,4	4,7
13													0,7	4,1	2,3	-14,9	0,0	2,0
14														3,6	1,9	-9,1	-0,7	1,7
15															-0,6	-11,7	-4,0	0,2
16																-7,2	-2,3	0,6
17																	7,4	4,8
18																		2,0

(*) Valores de Z maiores que 3,61 são significativos ao nível de 0,05 de probabilidade
 (**) Os tratamentos foram descritos em 3.2.3.

Tabela 24. Valores do teste de Z^* da frequência de mutações de clorofila Msd, ori-
da do tratamento de raios-gama e azida sódica.

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	-5,1	-4,6	-4,9	-5,5	0,1	-4,9	-6,5	-6,9	-5,22	-8,3	-9,0	-7,3	-8,3	-7,4	-8,8	-10,4	-9,6	-8,6
2		1,2	0,3	-1,5	5,3	0,3	-4,1	-7,4	-0,6	-4,6	-18,6	-8,9	-13,5	-9,2	-11,3	-22,6	-18,5	-8,4
3			-0,7	-2,4	4,8	-0,8	-4,7	-7,3	-1,6	-5,1	-15,6	-8,5	-12,1	-8,8	-11,6	18,9	-16,3	-8,7
4				-1,6	5,1	-0,0	-3,7	-6,0	-0,8	-4,0	-13,5	-7,1	-10,4	-7,4	-10,4	-16,6	-14,4	-8,1
5					5,7	1,6	-1,9	-3,9	0,9	-2,1	-11,1	-5,0	-8,1	-5,4	-8,6	-14,1	-12,2	-6,9
6						-5,1	-6,5	-7,1	-5,4	-6,5	-9,3	-7,5	-8,5	-7,5	-9,0	-10,2	-9,8	-8,9
7							-3,9	-6,7	-0,8	-4,3	-15,4	-7,9	-11,6	-8,2	-11,1	-18,9	-16,0	-8,3
8								-2,0	3,2	-0,1	-10,6	-3,4	-7,1	-3,5	-7,6	-14,3	-11,8	-5,9
9									5,9	2,1	-12,3	-1,8	-6,8	-2,4	-7,0	-17,3	-12,9	-5,2
10										-3,6	-15,1	-7,2	-11,1	-7,7	-10,6	-18,7	-15,7	-7,9
11											-12,0	-3,6	-7,8	-4,1	-7,9	-16,1	-12,9	-6,0
12												9,8	4,7	8,2	-0,3	-7,5	-3,6	-1,2
13													-4,8	-0,7	-5,8	-14,9	-11,0	-4,5
14														3,7	-2,8	-10,5	-8,9	-2,7
15															-5,1	-12,9	-9,6	-4,1
16																-3,1	-1,8	-0,9
17																	1,9	0,7
18																		0,1

(*) Valores de Z maiores que 3,61 são significativos ao nível de 0,05 de probabilidade
 (**) Os tratamentos foram descritos em 3.2.3.

Tabela 25. Valores do teste de Z* da frequência de mutantes de clorofila Mtsd, originado do tratamento associado de raios-gama e azida sódica em arroz.

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	-9,3	-10,6	-12,0	-13,0	2,7	-12,4	-13,6	-9,3	-12,9	-16,0	-19,8	-18,1	-18,6	-18,4	-20,1	-21,6	-21,7	-13,6
2		-3,2	-6,8	-9,1	8,7	-8,1	-10,8	-0,6	-9,6	-18,7	-32,4	-25,9	-26,9	-26,3	-25,5	-36,9	-34,8	-9,2
3			-3,5	-5,9	9,5	-4,4	-7,4	2,3	-5,8	-14,4	-27,1	-21,1	-22,3	-21,6	-22,1	27,3	-30,1	-7,9
4				-2,6	10,3	-0,7	-3,9	5,5	-2,0	-10,4	-22,6	-16,8	-18,0	-17,4	-18,9	-31,7	-26,1	-6,4
5					11,0	2,2	-1,1	7,6	0,9	-6,8	-17,7	-12,5	-13,8	-13,3	-15,8	-22,4	-21,7	-5,2
6						-10,5	-11,3	-8,8	-10,7	-12,7	-14,9	-13,9	-14,2	-14,1	-15,4	-16,0	-16,1	-12,5
7							-3,6	6,4	-1,5	-10,8	-25,1	-18,2	-19,5	-18,8	-19,6	-30,3	-28,3	-6,2
8								9,0	2,3	-5,8	-17,2	-11,7	-13,0	-12,5	-15,2	-22,1	-21,3	-4,8
9									-7,7	-15,3	-25,9	-20,9	-21,9	-21,4	-22,4	-30,0	-29,0	-8,8
10										-9,4	-23,9	-16,9	-18,3	-17,6	-18,6	-29,4	-27,3	-5,7
11											-14,7	-7,3	-9,1	-8,4	-12,1	-21,0	-19,6	-2,7
12												7,9	4,9	5,6	-3,7	-9,4	-9,0	0,9
13													-2,3	-1,6	-7,8	-15,8	-14,4	-0,8
14														0,8	-6,2	-12,5	-11,9	-0,2
15															-6,6	-13,0	-12,4	-0,4
16																-1,4	-2,0	2,2
17																	-1,1	2,8
18																		3,1

(*) Valores de Z maiores que 3,61 são significativos ao nível de 0,05 de probabilidade
 (**) Os tratamentos foram descritos em 3.2.3.

Tabela 26. Eficiência Msp/Dano e Msp(1-Dano/100) do tratamento com raios-gama e azida sódica em arroz

Trat.*	EFICIÊNCIA MSP/DANO				EFICIÊNCIA Msp(1-Dano/100)			
	Msp/I	Msp/L ₁	Msp/L ₂	Msp/S	I	L ₁	L ₂	S
1	ERR	ERR	ERR	ERR	ERR	0.40	0.40	0.40
2	0.5174	1.0731	2.6498	0.2984	6.24	6.77	7.06	5,50
3	-1.7132	0.8099	0.5478	0.0902	4.72	4.34	4.21	2.25
4	0.6844	0.4141	0.1899	0.1022	5.00	4.71	3.88	2.55
5	0.2264	0.7434	0.1815	0.0794	4.34	5.38	3.96	1.54
6	0.0822	0.0741	0.6255	2.4887	0.40	0.40	0.42	0.42
7	1.9908	0.6741	0.4470	0.1262	6.13	5.73	5.43	3.16
8	0.2775	0.6585	0.4440	0.1092	5.94	7.50	6.95	1.81
9	0.9364	1.1083	1.1875	2.0770	11.93	12.26	12.38	13.09
10	0.5989	0.6680	0.6759	0.3992	9.31	9.54	9.56	8.20
11	0.4827	1.2679	0.6527	0.2528	10.42	13.40	11.67	6.06
12	1.0179	1.7638	3.1138	1.9089	24.81	39.24	47.77	40.73
13	1.0420	1.7299	1.3449	0.5819	20.97	24.19	22.79	14.55
14	0.3846	1.4464	0.8492	0.3060	9.40	18.73	16.35	6.14
15	0.2940	0.5835	0.4747	0.2671	7.30	11.58	10.58	6.43
16	0.2086	0.4897	0.3258	0.2040	2.57	11.35	8.07	2.22
17	0.7882	1.0762	1.6743	0.8067	13.99	26.47	38.67	15.07
18	0.3391	0.3960	0.6982	0.3045	5.41	8.54	16.59	2.94
19	0.1657	0.1692	0.2028	0.1492	1.57	1.84	3.99	0.10

(*) Os tratamentos foram descritos em 3.2.3.

(**) Indica erro originado por uma divisão por zero.

Tabela 27. Eficiência Msd/Dano e Msd(1-Dano/100) do trata-mentocom raios-gama e azida sódica em arroz.

N.Trat*	EFICIÊNCIA Msd/Dano				EFICIÊNCIA Msd(1-Dano/100)			
	Msd/I	Msd/L ₁	Msd/L ₂	Msd/S	I	L ₁	L ₂	S
1	ERR**	ERR	ERR	ERR	0,0058	0,0058	0,0058	0,0058
2	0,0069	0,0143	0,0352	0,0040	0,0830	0,0900	0,0939	0,0731
3	0,0339	0,0160	0,0108	0,0018	0,0935	0,0850	0,0834	0,0440
4	0,0135	0,0082	0,0037	0,0020	0,0986	0,0930	0,0765	0,0503
5	0,0060	0,0198	0,0048	0,0021	0,1154	0,1433	0,1055	0,0410
6	0,0010	0,0009	0,0076	0,0301	0,0048	0,0048	0,0051	0,0051
7	0,0340	0,0115	0,0076	0,0022	0,1048	0,0980	0,0929	0,0539
8	0,0075	0,0179	0,0121	0,0030	0,1616	0,2038	0,1889	0,0490
9	0,0116	0,0138	0,0147	0,0258	0,1481	0,1521	0,1536	0,1624
10	0,0066	0,0074	0,0075	0,0044	0,1026	0,1051	0,1054	0,0904
11	0,0076	0,0199	0,0103	0,0040	0,1639	0,2107	0,1836	0,0952
12	0,0190	0,0329	0,0580	0,0356	0,4622	0,7309	0,8899	0,7588
13	0,0165	0,0273	0,0212	0,0092	0,3311	0,3820	0,3599	0,2297
14	0,0111	0,0417	0,0245	0,0088	0,2708	0,5395	0,4710	0,1767
15	0,0082	0,0163	0,0133	0,0075	0,2038	0,3233	0,2955	0,1796
16	0,0134	0,0315	0,0210	0,0131	0,1657	0,7305	0,5195	0,1432
17	0,0253	0,0346	0,0538	0,0259	0,4497	0,8508	1,2428	0,4842
18	0,0187	0,0219	0,0386	0,0168	0,2992	0,4717	0,9170	0,1627
19	0,0175	0,0179	0,0214	0,0158	0,1660	0,1947	0,4216	0,0107

(*) Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.

(**) Error devido a divisão por zero,

Tabela 28. Eficiência Mtsd/Dano e Mtsd(1-Dano/100) do tra-tamento com de raios-gama e azida sódica em arroz.

Tratam*.	EFICIÊNCIA Mtsd/Dano				EFICIÊNCIA Mtsd(1-Dano/100)			
	Mtsd/I	Mtsd/L ₁	Mtsd/L ₂	Mtsd/S	I	L ₁	L ₂	S
1	ERR**	ERR	ERR	ERR	0.0384	0.0384	0.0384	0.0384
2	0.0237	0.0492	0.1215	0.0137	0.2864	0.3106	0.3240	0.2521
3	-0.1689	0.0798	0.0540	0.0089	0.4653	0.4275	0.4151	0.2221
4	0.0796	0.0482	0.0221	0.0119	0.5808	0.5482	0.4506	0.2961
5	0.0317	0.1040	0.0254	0.0111	0.6067	0.7534	0.5544	0.2157
6	0.0023	0.0021	0.0177	0.0703	0.0113	0.0112	0.0118	0.0119
7	0.2103	0.0712	0.0472	0.0133	0.6474	0.6058	0.5739	0.3333
8	0.0296	0.0703	0.0474	0.0117	0.6343	0.7999	0.7417	0.1932
9	0.0311	0.0368	0.0395	0.0690	0.3966	0.4075	0.4114	0.4353
10	0.0390	0.0435	0.0440	0.0260	0.6064	0.6213	0.6229	0.5342
11	0.0471	0.1237	0.0637	0.0247	1.0167	1.3068	1.1387	0.5906
12	0.0577	0.0999	0.1764	0.1081	1.4056	2.2226	2.7060	2.3074
13	0.0935	0.1553	0.1207	0.0522	1.8820	2.1718	2.0461	1.3059
14	0.0461	0.1734	0.1018	0.0367	1.1268	2.2447	1.9599	0.7354
15	0.0463	0.0920	0.0748	0.0421	1.1503	1.8248	1.6678	1.0134
16	0.0531	0.1246	0.0828	0.0519	0.6544	2.8856	2.0520	0.5632
17	0.0668	0.0912	0.1418	0.0683	1.1852	2.2425	1.8014	0.7023
18	0.0686	0.0801	0.1412	0.0616	1.0946	1.7258	3.2758	1.2762
19	0.0306	0.0313	0.0375	0.0276	0.2905	0.3407	0.7378	0.0188

(*) Os tratamentos estão descritos em 3.2.3.

(**) Error devido a divisão por zero,

DERIVAÇÃO DE UN ÍNDICE DE EFICIÊNCIA MUTAGÊNICA COMO
UMA ALTERNATIVA PARA A FÓRMULA DE KONZAK et al. (1965).

A derivação será exemplificada para a eficiência Msp/I.

Na fórmula original de KONZAK et al. (1965) tem-se com simbologia proposta:

$$M_{sp} = \frac{Nm}{Np} \cdot \frac{Tt - Tr}{Tt}$$

Onde:

Nm = Número de mutações

Np = Número de plântulas M₂

Tt = Altura da testemunha em % (100)

Tr = Altura da plântula originada do tratamento mutagênico em %

$$\frac{M_{sp}}{I} = \frac{Nm}{Np} \cdot 100 \cdot \frac{1}{\frac{Tt - Tr}{Tt} \cdot 100} = \frac{Nm}{Np} \cdot \frac{Tt}{Tt - Tr}$$

índice proposto

$$\begin{aligned} \frac{Nm}{Np} \cdot \frac{Tr}{Tt} \cdot 100 &= \frac{Nm}{Np} \cdot 100 \cdot \frac{Tr}{Tt} \\ &= \frac{Nm}{Np} \cdot 100 \cdot \frac{Tt - Tt + Tr}{Tt} = \frac{Nm}{Np} \cdot 100 \cdot 1 - \frac{Tt - Tr}{Tt} \\ &= M_{sp} \cdot 1 - \frac{I}{100} \end{aligned}$$

Os limites destes índices são:

Situação	KONZAK et al.(1965)	Proposto
Tr < Tt	$\begin{array}{c} \text{Nm} \\ a \text{ ---} \\ \text{Np} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{Nm} \\ +b \text{ ---} \\ \text{Np} \end{array} . 100$
Tr = Tt	infinito	$\begin{array}{c} \text{Nm} \\ \text{---} \\ \text{Np} \end{array} . 100$
Tr > Tt	$\begin{array}{c} \text{Nm} \\ -a \text{ ---} \\ \text{Np} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{Nm} \\ +b \text{ ---} \\ \text{Np} \end{array} . 100$

$$c = \frac{Tt}{Tt - Tr} = \frac{100}{I}, \quad b = \frac{Tr}{Tt}$$

O índice de KONZAK et al. (1965) origina valores sem interpretação quando $Tr = Tt$ (a eficiência tem um valor infinito) ou quando $Tr > Tt$ (ocasiona uma eficiência negativa), já o índice proposto tem sempre valor positivo.

Outra limitação do índice de KONZAK et al. (1965) é a hipersensibilidade a baixos valores de I , como pode ser observado nos valores da eficiência calculados a partir de dados simulados da Tabela 29 e 30 assim como na figura 29 elaborada com os dados da diagonal com pendente negativa das Tabelas recém mencionadas.

Com o uso de tais diagonais, num só gráfico múltiplas situações de cálculo para ambos índices podem ser observados (Figura 29). Pode-se verificar que o índice de KONZAK et al. (1965) cresce notavelmente quando $M_{sp} = 2,51$ e $I = 0,15$. Ao contrário o índice proposto tem um valor de apenas 2,506. Todavia esse valor vai crescendo no decorrer dos valores crescentes simulados. No caso do índice de KONZAK et al. (1965) também depois do pico de crescimento anotado adota uma tendência crescente e progressiva.

Figura 29. Contraste entre os valores dos índices de eficiência mutagênica Msp/I e $Msp(1-I/100)$ para valores simulados tomados da diagonal com pendente negativa das Tabelas 29 e 30.

Tabela 29. Eficiência de Msp/I para valores simulados de Msp e I. (*)

	-3	-2	0	0,01	0,1	0,15	2	8	18	23	28	33	38	43	48	53	58	63	68
0,00	0,00	0,0	N.C.	0,0	0,0	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,009	-0,00	-0,00	N.C.	0,9	0,09	0,06	0,005	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,01	-0,00	0,0000	N.C.	1	0,1	0,07	0,005	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,51	-0,05	-0,08	N.C.	1	0,1	0,07	0,005	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
1,00	-0,33	-0,5	N.C.	100	10,0	6,67	0,500	0,125	0,056	0,043	0,036	0,030	0,026	0,023	0,021	0,019	0,017	0,016	0,015
2,51	-0,84	-1,26	N.C.	251	25,1	16,73	1,255	0,314	0,139	0,109	0,090	0,076	0,066	0,058	0,052	0,047	0,043	0,040	0,037
3,01	-1,00	-1,51	N.C.	301	30,1	20,07	1,505	0,376	0,167	0,131	0,108	0,091	0,079	0,070	0,063	0,057	0,052	0,048	0,044
4,01	-1,34	-2,01	N.C.	401	40,1	26,73	2,005	0,501	0,223	0,174	0,143	0,122	0,106	0,093	0,084	0,076	0,069	0,064	0,059
8,01	-2,67	-4,01	N.C.	801	80,1	53,4	4,005	1,001	0,445	0,348	0,286	0,243	0,211	0,186	0,167	0,151	0,138	0,127	0,118
12,01	-4,00	-6,01	N.C.	1201	120,1	80,07	6,005	1,501	0,667	0,522	0,429	0,364	0,316	0,279	0,250	0,227	0,207	0,191	0,177
16,01	-5,34	-8,01	N.C.	1601	160,1	106,7	8,005	2,001	0,889	0,696	0,572	0,485	0,421	0,372	0,334	0,302	0,276	0,254	0,235
20,01	-6,67	-10	N.C.	2001	200,1	133,4	10,01	2,501	1,112	0,870	0,715	0,606	0,527	0,465	0,417	0,378	0,345	0,318	0,294
24,01	-8,00	-15	N.C.	2401	240,1	160,1	12,01	3,001	1,334	1,044	0,858	0,728	0,632	0,559	0,500	0,453	0,414	0,381	0,353
28,01	9,34	-14	N.C.	2801	280,1	186,7	14,01	3,501	1,556	1,218	1,000	0,849	0,737	0,651	0,584	0,528	0,483	0,445	0,412
32,01	-10,7	-16	N.C.	3201	320,1	213,4	16,01	4,001	1,778	1,382	1,143	0,970	0,842	0,744	0,667	0,604	0,552	0,508	0,471
36,01	-12,00	-18	N.C.	3601	360,1	240,1	18,01	4,501	2,001	1,566	1,286	1,091	0,948	0,837	0,750	0,679	0,621	0,572	0,530
40,01	-13,3	-20	N.C.	4001	400,1	266,7	20,01	5,001	2,223	1,740	1,429	1,212	1,053	0,930	0,834	0,755	0,680	0,635	0,588
44,01	-14,7	-22	N.C.	4401	440,1	293,4	22,01	5,501	2,445	1,913	1,572	1,334	1,158	1,023	0,917	0,830	0,759	0,689	0,647
48,01	-16,00	-24	N.C.	4801	480,1	320,1	24,01	6,001	2,667	2,087	1,715	1,455	1,263	1,117	1,000	0,906	0,828	0,762	0,706

(*) Os números da primeira coluna da esquerda pertencem ao Msp; e os da primeira fila de enclima correspondem a I

Tabela 30. Eficiência Msp(1-I/100) para valores simulados de Msp e I. (*)

	-3	-2	0	0,01	0,1	0,15	2	8	18	23	28	33	38	43	48	53	58	63	68
0,00	0,000	0,000	0,00	0,00	0,0	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,009	0,008	0,007	0,007	0,006	0,006	0,006	0,005	0,005	0,004	0,004	0,003	0,003
0,01	0,010	0,010	0,01	0,01	0,010	0,010	0,010	0,009	0,008	0,008	0,007	0,007	0,006	0,006	0,005	0,005	0,004	0,004	0,003
0,51	0,153	0,153	0,15	0,15	0,150	0,150	0,147	0,138	0,123	0,116	0,108	0,101	0,093	0,086	0,078	0,071	0,063	0,056	0,048
1,00	1,030	1,020	1,00	1,00	0,999	0,999	0,980	0,920	0,820	0,770	0,720	0,670	0,620	0,570	0,520	0,470	0,420	0,37	0,32
2,51	2,585	2,560	2,51	2,51	2,507	2,506	2,460	2,309	2,058	1,933	1,807	1,682	1,556	1,431	1,305	1,180	1,054	0,929	0,803
3,01	3,100	3,070	3,01	3,01	3,007	3,050	2,960	2,769	2,468	2,318	2,167	2,017	1,866	1,716	1,565	1,415	1,264	1,114	0,963
4,01	4,130	4,090	4,01	4,01	4,006	4,004	3,930	3,689	3,288	3,088	2,887	2,687	2,486	2,286	2,085	1,885	1,684	1,484	1,283
8,01	8,250	8,170	8,01	8,009	8,002	7,998	7,850	7,389	6,568	6,168	5,767	5,367	4,966	4,566	4,165	3,765	3,364	2,964	2,563
12,01	12,37	12,25	12,01	12,01	12,00	11,99	11,77	11,05	9,848	9,248	8,647	8,047	7,446	6,846	6,245	5,645	5,044	4,444	3,843
16,01	16,49	16,33	16,01	16,01	15,99	15,99	15,69	14,73	13,13	12,33	11,53	10,73	9,926	9,126	8,325	7,525	6,724	5,924	5,123
20,01	20,61	20,41	20,01	20,01	19,99	19,98	19,61	18,41	16,41	15,41	14,41	13,41	12,41	11,41	10,41	9,405	8,404	7,404	6,403
24,01	24,73	24,49	24,01	24,01	23,99	23,97	23,53	22,09	19,69	18,49	17,29	16,09	14,89	13,69	12,49	11,28	10,08	8,884	7,683
28,01	28,85	28,57	28,01	28,01	27,98	27,97	27,45	25,77	22,97	21,57	20,17	18,77	17,37	15,97	14,57	13,16	11,76	10,36	8,963
32,01	32,97	32,65	32,01	32,01	31,98	31,96	31,37	29,45	26,25	24,65	23,05	21,45	19,85	18,25	16,65	15,04	13,44	11,84	10,24
36,01	37,09	36,73	36,01	36,01	35,97	35,96	35,29	33,13	29,53	27,73	25,93	24,13	22,33	20,53	18,73	16,92	15,12	13,32	11,52
40,01	41,21	40,81	40,01	40,01	39,97	39,95	39,21	36,81	31,81	30,81	28,81	26,81	24,81	22,81	20,81	18,80	16,8	14,8	12,8
44,01	45,33	44,89	44,01	44,01	43,97	43,94	43,13	40,49	36,09	33,89	31,69	29,49	27,29	25,09	22,89	20,68	18,48	16,28	14,08
48,01	49,45	48,97	48,01	48,01	47,96	47,94	47,05	44,17	39,37	36,97	34,57	32,17	29,77	27,37	24,97	22,56	20,16	17,76	15,36