**CARACTERIZAÇÃO DE GRUPOS DE GERMOPLASMAS
DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) POR MEIO DA SENSITIVIDADE À
RADIÇÃO GAMA**

LUÍS ROBERTO FRANCO RODRIGUES
Engenheiro Agrônomo

Orientador: **Prof. Dr. AKIHIKO ANDO**

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração: Genética e Melhoramento de Plantas.

P I R A C I C A B A
Estado de São Paulo - Brasil
Outubro - 1994

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

Rodrigues, Luis Roberto Franco

Caracterização de grupos de germoplasmas de arroz (*Oryza sativa* L.)
por meio da sensibilidade à radiação gama. Piracicaba, 1995.
74p.

Diss.(Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Arroz - Genética 2. Germoplasma de arroz 3. Radiação gama em arroz
1. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP

**CARACTERIZAÇÃO DE GRUPOS DE GERMOPLASMAS
DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) POR MEIO DA SENSITIVIDADE À
RADIAÇÃO GAMA**

LUIS ROBERTO FRANCO RODRIGUES

Aprovada em: 14.12.1994

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Akihiko Ando

ESALQ/USP

Prof. Dr. Augusto Tulmann Neto

CENA/USP

Prof. Dr. José Dias Costa

ESALQ/USP

Prof. Dr. Akihiko Ando

Orientador

Aos meus pais Geraldo e Antonieta
e minha irmã Cláudia
DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Akihiko Ando pela orientação e ensinamentos transmitidos durante o curso de mestrado;

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela bolsa concedida;

Ao professor Dr. Roland Vencovsky, Departamento de Genética da ESALQ, USP, pelo incentivo e discussão referentes ao tema da dissertação;

Aos colegas do curso de pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas;

Ao Dr. Gurdev S. Khush, International Rice Research Institute (IRRI), pelas informações cedidas;

Ao Marcelo Correia Alves programador de sistemas do Centro de Informática na Agricultura (CIAGRI), pela elaboração dos programas estatísticos;

À Kátia de Andrade da Divisão de Biblioteca e Documentação da ESALQ, USP, pela dedicação e amizade;

Aos professores e funcionários do Departamento de Genética da ESALQ, USP, pela cordialidade e presteza.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	VI
LISTA DE TABELAS.....	VII
RESUMO.....	X
SUMMARY.....	XII
1.INTRODUÇÃO.....	01
2.REVISÃO DE LITERATURA.....	04
2.1. Histórico.....	04
2.2. Tipos de radiação e efeitos biológicos.....	06
2.3. Fatores que afetam a radiosensitividade das plantas.....	09
2.3.1 Fatores físicos.....	09
2.3.2 Fatores biológicos.....	13
2.3.3 Fatores ambientais.....	17
2.4. Determinação da radiosensitividade.....	21
2.5. Classificação das variedades de arroz.....	23
2.6. Critérios de classificação dos grupos de arroz...	29
2.6.1. Diferenças entre Indica e Japônica.....	31
2.6.1.1. Caracteres agronômicos e resistência à doenças.....	31
2.6.1.2. Hibridação.....	32
2.6.1.3. Distribuição geográfica.....	33
2.6.1.4. Aspecto Molecular.....	34

3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
3.1. Materiais.....	36
3.2. Métodos.....	39
3.2.1 Determinação da radiosensitividade em M ₁ ..	39
3.2.2 Análise univariada.....	40
3.2.3 Análise multivariada.....	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
4.1. Análise univariada.....	43
4.2. Avaliação da geração M ₁	45
4.3. Análise multivariada.....	52
5. CONCLUSÕES.....	63
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Relação entre doses de radiação gama e porcentagem média de emergência de plântulas M ₁	49
FIGURA 2. Relação entre doses de radiação gama e altura de plântulas M ₁	49
FIGURA 3. Relação entre doses de radiação gama e porcentagem média de sobrevivência de plântulas M ₁	49
FIGURA 4. Dispersão dos 90 germoplasmas de arroz pertencentes aos grupos japonês, filipino e brasileiro; baseado nas primeiras variáveis canônicas na dose 0 Gy.....	54
FIGURA 5. Dispersão dos 90 germoplasmas de arroz pertencentes aos grupos japonês, filipino e brasileiro; baseado nas primeiras variáveis canônicas na dose 60 Gy.....	55

FIGURA 6. Dispersão dos 90 germoplasmas de arroz pertencentes aos grupos japonês, filipino e brasileiro; baseado nas primeiras variáveis canônicas na dose 120 Gy.....	56
FIGURA 7. Dispersão dos 90 germoplasmas de arroz pertencentes aos grupos japonês, filipino e brasileiro; baseado nas primeiras variáveis canônicas na dose 180 Gy.....	57
FIGURA 8. Dispersão dos 90 germoplasmas de arroz pertencentes aos grupos japonês, filipino e brasileiro; baseado nas primeiras variáveis canônicas na dose 240 Gy.....	58
FIGURA 9. Dispersão dos 90 germoplasmas de arroz pertencentes aos grupos japonês, filipino e brasileiro; baseado nas primeiras variáveis canônicas na dose 300 Gy.....	59
FIGURA 10. Dispersão dos 90 germoplasmas de arroz pertencentes aos grupos japonês, filipino e brasileiro; baseado nas primeiras variáveis canônicas na dose 360 Gy.....	60

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Classificação dada por vários autores dos grupos de arroz.....	26
Tabela 2. Comparação dos grupos de arroz cultivado por meio de alguns caracteres.....	26
Tabela 3. Classificação do arroz cultivado em ecoespécies e ecotipos.....	27
Tabela 4. Probabilidade de classificação errada dos cultivares de arroz em grupos indica e japônica por diferentes caracteres.....	30
Tabela 5. Germoplasmas de arroz utilizados na presente pesquisa.....	36
Tabela 6. Esquema da análise de variância para cada caráter na geração M_1	41
Tabela 7. Resumo da variância, média e coeficiente de variação (CV) de três caracteres avaliados na geração M_1 . Arroz, Piracicaba-SP, 1991-92.....	44

Tabela 8. Médias, desvios-padrão, e teste de Tukey de três caracteres dentro de cada grupo de arroz em função das doses de radiação gama.....	46
Tabela 9. Médias, desvios-padrão e teste de Tukey de três caracteres entre grupos de arroz em função das doses de radiação gama.....	47
Tabela 10. Probabilidade de classificação errada dos germoplasmas em grupos japonês, filipino e brasileiro por meio de três caracteres avaliados na geração M_1	62

CARACTERIZAÇÃO DE GRUPOS DE GERMOPLASMAS DE
ARROZ (*Oryza sativa* L.) POR MEIO DA SENSITIVIDADE À
RADIAÇÃO GAMA

Autor: LUÍS ROBERTO FRANCO RODRIGUES

Orientador: Prof. Dr. AKIHIKO ANDO

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo a caracterização de grupos de arroz de sequeiro (*Oryza sativa* L.) por meio da sensibilidade à radiação gama. Sementes de 90 germoplasmas procedentes do Japão, Filipinas e Brasil foram submetidas a várias dosagens de radiação gama e semeadas em caixas de madeira com terra em delineamento inteiramente casualizado com três repetições. O experimento foi conduzido em casa de vegetação no período de 1991-92. A medida da sensibilidade foi feita por meio dos efeitos fisiológicos causados na geração M_1 , foram determinadas as porcentagens de emergência e sobrevivência e a medida da altura de plântulas. Os resultados da análise univariada foram significativos para todas as variáveis consideradas. A análise multivariada acusou diferenças significativas entre grupos nas dosagens de 60 e 180 Gy. Entretanto, o

gráfico da distribuição das variáveis canônicas e análise de função discriminante não evidenciaram a diferença entre os grupos. Portanto, a sensibilidade à radiação gama dos caracteres avaliados não foi eficiente para caracterizar estes grupos.

CHARACTERIZATION OF GERMPLASM GROUPS OF RICE
(*Oryza sativa* L.) THROUGH GAMMA-RAY SENSITIVITY

Author: LUÍS ROBERTO FRANCO RODRIGUES

Adviser: Prof. Dr. AKIHIKO ANDO

SUMMARY

The present work was carried out to characterize three groups of rice (*Oryza sativa* L.) through gamma-ray sensitivity. Seeds of 90 germplasms collected from Japan, Philippines and several Brazilian institutions, were submitted to various doses of gamma-radiation and sown in wooden boxes in greenhouse according to completely randomized design with three replications. All experiments were conducted during the period from 1991 to 1992. Physiological effects caused by radiation in the M₁ generation, such as seed emergency, seedling height and survival rate, were determined and evaluated. Univariate analysis was carried out and the results show significant difference among 3 groups. Multivariate analysis indicates significant difference among groups in the doses of 60 and 180 Gy. However, graph of distribution of canonic variables and analysis of discriminant function did not evidence these groups. Therefore, radiosensitivity evaluated on these

characters is not efficient enough to characterize the groups.

1. INTRODUÇÃO

Durante este século, os melhoristas vêm desenvolvendo variedades de diversas culturas visando o aumento ou estabilização da produção e da melhoria de outros caracteres de valor agrônomo. A obtenção de variedades melhoradas é dependente da diversidade genética da espécie; se esta for insuficiente, pode levar uma cultura a vulnerabilidade genética a algum fator inesperado, ou então, comprometer a continuidade do melhoramento pela falta de genes importantes. Segundo KHUSH (1990), em arroz (*Oryza sativa* L.), a variabilidade genética reduzida aliada a práticas culturais modernas e aos cultivos sucessivos têm aumentado no últimos anos a vulnerabilidade genética à incidência de pragas e doenças. O autor relatou também que a resistência do hospedeiro tem sido o principal objetivo dos programas de melhoramento e que, para tanto, técnicas de "screening" têm sido desenvolvidas, coleções de germoplasma têm sido avaliadas e a herdabilidade estudada para a incorporação de novos genes nas variedades. Para a utilização da fonte de diversidade genética dos bancos de germoplasma, é obvia a necessidade de informações sobre a existência e as características dos materiais. Entretanto, essas informações podem ser insuficientes para os propósitos do melhoramento. Tradicionalmente, a avaliação e caracterização de

germoplasma é bastante dispendiosa e cabe ao melhorista avaliar as características mais importantes dentro das prioridades estabelecidas e com recursos que se dispõe, podendo levar algum tempo para obter os dados necessários. Desde a classificação inicial dada por Kato et al.¹, citado por OKA (1988), variedades de arroz (*Oryza sativa* L.) vêm sendo classificados em dois principais grupos varietais denominados Indica e Japônica. A diferenças entre eles envolve caracteres morfológicos, serológicos, assim como a fertilidade do híbrido intervarietal. Segundo a classificação dada por OKA (1958), o grupo Japônica pode ser dividido em dois subgrupos: temperado e o tropical (Javânica). Métodos bioquímicos têm sido úteis para caracterizar variedades em grupos Indica e Japônica. Entretanto, esses métodos têm a desvantagem de inutilizar o material biológico. Desde os estudos iniciais feitos por JOHNSON, (1933) e SMITH (1942), têm sido demonstrado o fato de que variedades ou linhagens dentro de uma espécie apresentam diferenças de radiosensitividade. Além disso, entre os tipos Indica e Japônica também há diferenças de radiosensitividade (FUJII, 1962). Baseando-se no que foi exposto, o presente trabalho foi feito para caracterizar

¹ KATO, S.; KOSAKA H.; S. HARA; On the affinity of rice varieties as show by fertility of hybrid plants. **Bulletin Scientific Faculty Agricultural, Kyushu University, Fukuoka, 3: 132-47, 1928.**

germoplasmas procedentes do Japão, Filipinas e Brasil por meio da sensibilidade à radiação gama.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico

A aplicação da radiação na biologia teve início em 1895 com a descoberta dos raios X por Wilhelm Röntgen. No início, os pesquisadores começaram a utilizá-la em vários experimentos e principalmente na área da medicina sem conhecer realmente os efeitos causados por ela. Em 1906, dois radiobiologistas franceses Bergonié e Tribondeau constataram que tipos diferentes de células de mamíferos apresentavam reações diferentes à radiação (radiossensitividade). Por meio destes estudos, eles caracterizaram, de modo geral, as células radiossensitivas como sendo aquelas que possuíam: alta taxa mitótica, que tinham possibilidades de passarem por várias divisões celulares e que fossem células jovens. Estas generalizações ficaram conhecidas como a "Lei de Bergonié e Tribondeau". Apesar de haver muitas exceções, esta lei serve como "norma prática" para prever a radiossensitividade relativa das células. Estes estudos também constataram que características celulares (número e tamanho de cromossomos) entre espécies diferentes influenciavam na diferença de radiossensitividade entre elas.

Outro acontecimento importante foi a utilização dos raios X para induzir mutações em *Drosóphila melanogaster* (MÜLLER, 1927). STADLER (1928a, 1928b) também

conseguiu obter altas taxas de mutação em cevada e milho utilizando raios X como agente mutagênico como já havia sido sugerido em 1904. Posteriormente, Auerbach & Robson, citado por AUERBACH (1949), constataram que os mutagênicos químicos alquilantes também aumentavam a taxa de mutação em *Drosóphila*. Desde a descoberta dos raios X, vários estudos sobre a radiosensitividade dos diferentes materiais biológicos têm sido realizados. As informações obtidas destes estudos também são necessárias para a indução de mutação no melhoramento de plantas, cuja importância tem sido documentada por vários autores. Em cereais, na revisão feita por DONINI et al. (1984), foi apresentado o número de mutantes obtidos em algumas culturas e suas principais características como fonte de novos genes. RUTGER (1992) constatou que em arroz a indução de mutação produziu mais cultivares melhorados do que em outras culturas e que os principais caracteres obtidos foram a redução da altura, precocidade e alterações nas características dos grãos. Atualmente, pode se dizer que o uso da indução de mutação é importante não como método isolado, e sim, como parte de um sistema de melhoramento onde a recombinação é o principal método para a obtenção de novos cultivares.

2.2. Tipos de radiação e efeitos biológicos

Existem dois tipos de radiação: ionizantes e não ionizantes (BACQ & ALEXANDER 1966; KONZAK, 1957 e SPARROW 1961). As radiações ionizantes são representadas pelos raios X e raios gama, partículas alfa, beta, prótons e nêutrons. A radiação não ionizante pode ser representada pela luz ultravioleta. Cada tipo de radiação tem características próprias que devem ser consideradas no tratamento do material biológico. As propriedades das radiações ionizantes podem ser consultadas na tabela de BRIGGS & CONSTANTIN (1977). Por causa do baixo poder de penetração, a radiação ultravioleta tem sido usada no melhoramento de plantas para tratamentos de pólenes, esporos ou células cultivadas "in vitro". Já as radiações ionizantes têm poder de penetração mais alto do que a luz ultravioleta e podem ser usadas para tratamento de sistemas biológicos como sementes, tubérculos, bulbos, etc... Dependendo do teor de umidade do sistema biológico, o efeito da radiação ionizante pode ser direto ou indireto (PATT, 1953). Segundo Ehrenberg¹, citado por AHNSTRÖM (1977), em sementes com baixo teor de umidade (1-4%) o

¹ EHRENBURG, A. Research on free radicals in enzyme chemistry and in radiation biology, In:_____. **Free radicals in biological systems**, New York, Academic Press, 1961. p. 337-50.

efeito é direto; o movimento molecular é restrito e os radicais estáveis induzidos podem causar mais danos em presença de oxigênio. Em relação ao efeito direto, é aceita a hipótese de que as células ou moléculas vitais têm uma área ou volume de determinado tamanho sensível à radiação, chamada de "alvo". Se nenhum evento (toque ou quebra) ocorre dentro desta área ou volume, a célula ou molécula sobrevive, mas se ocorrer um ou mais eventos, a célula pode ser inativada (LEA, 1956). Nos cromossomos, as quebras terminais e intersticiais são bem explicados na maioria das vezes, pela teoria do alvo. O efeito indireto das radiações é importante, especialmente em soluções aquosas. A interação da radiação com as moléculas de água resulta em excitação, ionização ou superexcitação (MAGEE & CHATTERJEE, 1980). Na reação primária, são formados os radicais livres, que podem reagir entre si formando outros radicais, ou então, na presença de oxigênio molecular, formar espécies ativas do oxigênio como a hidroxila, o superóxido e os peróxidos. Das espécies ativas citadas, apenas a hidroxila e o superóxido possuem uma estrutura verdadeira de radical livre com um elétron desemparelhado na camada de valência. Os peróxidos e os demais radicais são considerados espécies intermediárias. Segundo SIGNORINI & SIGNORINI (1993), todos os radicais livres possuem um elevado potencial tóxico para as células. Esta toxicidade pode afetar os ácidos

nucléicos, a membrana plasmática e as organelas das células.

2.3 Fatores que afetam a radiosensitividade das plantas

A resposta da planta ou órgãos vegetais aos mutagênicos físicos e químicos é influenciada por vários fatores intrínsecos e extrínsecos, cuja importância é dependente do material biológico a ser tratado. Estes fatores determinam as doses e as concentrações mais adequadas para o sucesso do experimento. A seguir serão vistos, de modo geral, alguns destes fatores.

2.3.1 Fatores físicos

A taxa de aplicação de uma determinada dose de radiação, frequentemente tem efeitos quantitativos e qualitativos significativos. Por este motivo, a taxa de dose deve ser cuidadosamente escolhida e anotada em todos os experimentos (BRIGGS & KONZAK, 1977). Muitas aberrações cromossômicas são provocadas por um ou mais eventos quando causados pelos raios X ou raios gama. Os eventos mostram uma relação curvilínea em relação à dose, e desde que o fator tempo esteja envolvido, eles podem ser afetados pela taxa de dose. Estudando as aberrações cromossômicas, SAX¹, citado por MUJEEB (1970), verificou que uma dose de raios X, aplicada em 480 R (roentgens) por minuto, produzia duas vezes mais cromossomos dicêntricos do que a mesma dose

¹SAX, K. Types and frequencies of chromosomal aberration induced by X-rays. **Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology**. 9:93-101, 1941.

aplicada a 2,7 R por minuto. Em experimentos feitos com arroz e trigo, MATSUMURA (1964) constatou que as mutações de clorofila são dependentes da taxa de dose e geralmente são mais altas em doses agudas do que em doses crônicas. Entretanto, NATAJARAN & MARIC (1961), irradiando sementes de cevada e milho, verificaram que baixas taxas de dose são mais eficientes em produzir injúrias e mutações em plantas do que altas taxas de dose. Estudos comparativos entre os efeitos das exposições crônica e aguda de raios X e raios gama têm sido feitos para os caracteres de altura, sobrevivência, fertilidade, produção de grãos e indução de mutação em sementes e plantas. A exposição crônica pode durar semanas, meses ou anos, e a exposição aguda em minutos ou horas (BRIGGS, 1977). A irradiação aguda pode ser mais eficaz na inibição do crescimento e na diminuição da sobrevivência e fertilidade, porque na exposição crônica com baixa intensidade de dose, existe o fenômeno da recuperação do material irradiado (MATSUMURA, 1964). MABUCHI & MATSUMURA (1964), encontraram maior frequência de mutação em endospermas provenientes de pólen de milho irradiados com doses agudas de raios X. Entretanto, NYBOM et al. (1956) não encontraram diferenças entre as doses crônicas e agudas em cevada. A irradiação do material biológico que já havia sido irradiado em gerações

anteriores foi proposto por Freisleben & Lein², citado por BRIGGS & KONZAK (1977), para aumentar a variabilidade genética em programas de melhoramento. YAMAGUCHI (1962) estudou o efeito da irradiação recorrente em populações de arroz e cevada utilizando doses constantes de raios X. Os resultados não indicaram aumento ou diminuição da radiosensitividade das sementes das populações tratadas. Em arroz, a frequência e o espectro de mutações aumentaram e foram maiores na dose mais baixa (10 KR). SCARASCIA-MUGNOZZA & MONTI (1966), utilizando todas as combinações entre raios X e etilenoimina (EI) em cinco gerações de trigo, relataram um pequeno aumento da frequência de mutação de clorofila e nenhuma diferença no espectro de mutações. Constataram que o tipo e a frequência de mutação obtidos pelo tratamento recorrente são muito pequenos para compensar o trabalho e o tempo exigido. Tipos diferentes de radiações ou a mesma radiação com energias diferentes produzem um número médio de ionizações por micra de tecido atravessado (GRAY, 1952). Para produzir um determinado efeito biológico, são necessárias doses mais altas de raios gama que nêutrons. A eficiência biológica relativa (RBE) de nêutrons é alta. Vários trabalhos constataram que a RBE é

² FREISLEBEN, R. & LEIN, A. Vorarbeiten zur züchterischen Auswertung röntgeninduzierter Mutationen. I die in der Behandlungsgeneration (X_1) sichtbare Wirkung der Bestrahlung ruhender Gerstenkörner, Z. fflanzenzuecht. (3/4), p. 232-54, 1943.

dependente da taxa de transferência linear de energia (LET) de partículas ionizantes para moléculas do tecido. CALDECOTT (1955a) observou efeitos fisiológicos mais intensos em cevada na irradiação de raios X do que nêutrons, embora raios X e nêutrons produzam a mesma proporção de mutantes. MIKAELSEN et al. (1968) encontraram duas a três vezes mais mutações de clorofila em sementes de arroz na irradiação com nêutrons rápidos quando comparada com raios gama. Entretanto, diferenças não foram encontradas entre nêutrons rápidos e térmicos na produção de efeitos biológicos (CALDECOTT, 1955b). Os efeitos provocados por nêutrons dependem muito menos dos fatores ambientais que raios X ou raios gama (CONGER et al., 1966).

2.3.2 Fatores biológicos

Vários estudos feitos por Ord & Danielli¹, citados por CASARETT (1968), envolveram radiação e transplante de partes vitais de ameba. A combinação de um núcleo irradiado com um citoplasma não irradiado apresentava duas vezes mais sensibilidade à radiação do que um núcleo não irradiado com um citoplasma irradiado. Este trabalho demonstrou a importância do núcleo na sobrevivência do organismo irradiado. SPARROW et al. (1961) encontraram correlações entre os componentes nucleares (número e tamanho dos cromossomos, volume nuclear e conteúdo de DNA) e a radiosensitividade. Dividindo o volume nuclear médio das células meristemáticas pelo número de cromossomos característico de cada espécie, obtêm-se um índice de radiosensitividade denominado Volume do Cromossomo Interfásico (ICV) (SPARROW et al., 1963). Em revisão feita por UNDERBRINK et al. (1968), ficou demonstrada a relação inversa entre a radiosensitividade e o ICV, e em menor grau a relação entre a radiosensitividade e o conteúdo de DNA. No caso de genótipos ou culturas dentro de uma mesma espécie, esta relação não é sempre mantida (CONGER, 1976; MUKHERGEE & BASU, 1975). Segundo UNDERBRINK et al. (1968), os volumes nuclear e do

¹ORD, M. M. & DANIELII, J. F. The site of damage in amoebae exposed to X-rays. **Quarterly Journal Microscopical Science**, 97: 29-37, 1956.

cromossomo interfásico e também o conteúdo de DNA são os fatores mais importantes que determinam a radiosensitividade. Em revisão feita por BOROJEVIC et al. (1977), o autor afirma que pequenas diferenças genéticas (monogênicas), nível de ploidia e a heterozigose podem induzir mudanças significativas na radiosensitividade que influenciam não somente a taxa, mas o espectro de mutações recuperáveis. De modo geral, pode ser verificado na revisão que dentro de um gênero, as espécies poliplóides são menos sensíveis à radiação que as espécies diplóides. O autor citou as razões desta observação afirmando que as espécies poliplóides têm alto grau de genes duplicados o que aumentaria a capacidade de suportar aberrações cromossômicas grosseiras. Além disso, os poliplóides possuem resistência fenotípica que restringe a mutabilidade de muitos caracteres, principalmente os essenciais à vida da planta. Deste modo, as mutações de clorofila diminuem com o aumento do nível de ploidia (STADLER, 1929). As espécies de mesmo nível de ploidia ou variedades dentro da mesma espécie podem responder de modo diferente ao mutagênico. Monossômicos de trigo (*Triticum aestivum*) mostraram frequências de mutação diferentes devido a fatores controladores do desenvolvimento de clorofila (TSUNEWAKI & HEYNE, 1959). Espécies poliplóides induzidas artificialmente são menos sensíveis à radiação do que as

espécies diplóides originais como no caso de centeio (SARIC, 1958) e arroz. (YAMAGUCHI & ANDO, 1959). A maior resistência das espécies poliplóides aos efeitos da radiação pode estar relacionada com o maior número de seqüências repetidas de DNA (BLOCK, 1980). Diferenças na radiosensitividade foram encontrados entre espécies, variedades e linhagens (SMITH, 1958). Enken^{1,2}, citado por BOROJEVIC et al. (1977), verificou que genótipos semelhantes apresentavam grande similaridade no espectro e na frequência de mutação. A heterozigose também é uma propriedade genotípica que pode influenciar a frequência de mutação. Muitos poliplóides são menos sensíveis à aberrações cromossômicas se estiverem na condição heterozigota (MACKEY, 1960). SARIC (1961), estudando o efeito da radiação em sementes de milho com graus diferentes de heterozigose, verificou que as linhagens são mais radiosensitivas que os híbrido simples e estes, por sua vez, são mais radiosensitivos que os híbridos duplos. Além disso, o autor verificou também que a

¹ENKEN, V. B. The role of variety in experimental mutagenesis. In:_____. **Experimental mutagenesis of agricultural plants and its application plant breeding**, Nauka, 1966. p. 23-25.

²ENKEN, V. B. Manifestations in experimental mutagenesis of Vavilov's law n homologous rows in hereditary variability, In: Induced mutation and their utilization SYMPOSIUM ON ERWIN-BAUER-GEDAVORLESUNGEN, 4., Gatersleben, 1966. Proceedings. Berlin, Akademie-Verlag, 1966.

radiossensitividade de tecidos diferentes , órgãos vegetais ou plantas, têm uma variação muito grande e está relacionada com o estado fisiológico do material tratado. O autor, estudando a radiossensitividade de sementes de trigo em várias fases de maturação, constatou que as sementes ontogeneticamente mais jovens apresentam maior radiossensitividade, e isto pode ser explicado pelo fato de que as células embrionárias em divisão estariam mais sujeitas aos efeitos da radiação, além do alto conteúdo de água no momento da radiação. As fases do desenvolvimento da planta e a fase de divisão celular no momento da irradiação também devem ser consideradas. IQBAL & ZAHUR (1975) encontraram maior radiossensitividade em arroz na fase de três a quatro folhas. GUDKOV & GRODZINSKY,(1982) e KOWYAMA et al. (1984) verificaram que, em arroz, a transição das fases mitóticas de G₁ para M apresentava maior radiossensitividade indicando associação dos danos causados pela radiação com a síntese de DNA.

2.3.3 Fatores ambientais

Em trabalhos iniciais, (HAYDEW & SMITH 1949; EHRENBURG et al., 1953; NILAN, 1954), foi demonstrado a influência do oxigênio na indução de efeitos biológicos, antes e durante a irradiação em sementes de cevada. Estes experimentos foram conduzidos sem considerar a importância do teor de umidade do embrião. Os resultados dos trabalhos constataram que as injúrias provocadas em plântulas e as frequências de aberrações cromossômicas eram maiores quando as sementes eram irradiadas em presença de oxigênio. Porém, não foi possível determinar se o aumento da sensibilidade das sementes germinadas em presença de oxigênio estava associado à produtos induzidos pela radiação ou a mecanismos envolvidos no aumento do metabolismo. Caldecott¹, citado por NILAN & KONZAK et al. (1961), encontrou uma relação importante entre o teor de umidade e a radiosensibilidade. CALDECOTT (1955a), verificou também que, em sementes com 16% de teor de umidade uma dose de 45 KR produziu 32% de sobrevivência. A mesma porcentagem de sobrevivência foi observada em sementes com 4% de teor de umidade aplicando-se 10 KR. Radicais livres já haviam sido detectados por (CONGER & RANDOLPH, 1959) e por outros auto-

¹CALDECOTT, R.S. The experimental control of the mutation process. Proceedings. Institute International Wheat Genetics Symposium, Winniping, 68-87, 1959.

res. Esta descoberta forneceu a base físico-química dos efeitos biológicos causados nas sementes irradiadas. Os resultados ligavam os radicais livres a uma grande parte dos efeitos causados pelas radiações. Ehrenberg¹, citado por CASARETT (1968), constatou que o número de radicais livres é independente do teor de umidade, mas o tempo de sobrevivência dos radicais dependem do grau de hidratação. Neste caso, a água facilitaria a mobilização dos radicais livres, permitindo uma recombinação entre eles formando produtos menos injuriosos. Por esta razão, nos níveis médios de teor de umidade, a sensibilidade à radiação é mínima. Em altos e baixos níveis de teor de umidade, a injúria é alta. NILAN & KONZAK et al. (1961) constataram que em sementes com 3% de teor de umidade, não havia água suficiente para dissolver o oxigênio e este não produziria um efeito imediato. Neste caso, os radicais induzidos ficariam em estado fixo, e sob hidratação, poderiam reagir fortemente com o oxigênio provocando injúrias. Nos níveis de 4-5%, haveria um número máximo de radicais livres, porém, não hidratados suficientemente para permitir inativações, ficando assim, disponíveis para reagirem com o oxigênio. NOTANI et al. (1962) verificaram que as injúrias

¹ EHRENBURG, A. Research on free radicals in enzyme chemistry and in radiation biology, In: _____. **Free radicals in biological systems**, New York, Academic Press, 1961. p. 337-50.

são altas em sementes com alto teor de umidade. Neste caso de alto teor de umidade e a atividade metabólica mais intensa em sementes, as combinações dos radicais produziriam efeitos mais drásticos. Entretanto, CONGER & CARABIA (1972) atribuem a alta sensibilidade às radiações das sementes com alto teor de umidade, à elevação do teor de hidrogênio que é proporcional ao teor de umidade, levando à formação de peróxidos de hidrogênio adicionais e prejudiciais às células. Em geral, o efeito do oxigênio pode ser minimizado se as sementes forem irradiadas: em anóxia (ausência de oxigênio), ou na presença de nitrogênio, ou então, ajustando o teor de umidade de 12 a 14% (CONGER et al., 1977). A influência da armazenagem, da temperatura e das substâncias radioprotetoras e radiosensibilizadoras tem sido estudadas sobre os efeitos causados pela radiação. O efeito dos raios X e dos raios gama em sementes armazenadas têm sido observado e estudado em detalhes por vários autores. CALDECOTT et al. (1957) e ADAMS & NILAN (1958) verificaram que sementes hidratadas ou armazenadas na presença de oxigênio após a irradiação apresentavam mais injúrias que aquelas armazenadas ou hidratadas em condições anaeróbicas. Além disso, CURTIS et al. (1958) constataram que, em sementes secas e armazenadas na presença de ar por algum período, os efeitos da radiação aumentavam, mas em sementes úmidas poucos efeitos eram

observados, não ocorrendo efeito da armazenagem para nêutrons. KAMRA et al. (1960) ressaltaram que a sensibilidade das sementes de cevada aos raios-X pode ser aumentada em longos períodos de embebição em água, devido não somente ao efeito indireto da água, mas também à perda de substâncias químicas protetoras por lixiviação. Durante ou após irradiação, a temperatura pode ter um efeito na quantidade de danos genéticos causados pelos raios-X ou raios gama. De qualquer modo, a temperatura está relacionada com o oxigênio e o teor de umidade na produção de injúrias em sementes de cereais (CONGER et al., 1971). Para CONGER et al. (1977), os efeitos da temperatura como fator modificador dos danos causados pela radiação não são entendidos claramente e para os melhoristas, ela parece não ter muita importância.

2.4 Determinação da radiosensitividade

De acordo com GAUL (1977), os mutagênicos químicos e físicos produzem quatro efeitos de interesse para os melhoristas, e são eles: 1) efeito fisiológico; 2) mutação gênica; 3) mutação cromossômica; 4) mutação extracromossômica. As mutações gênica, cromossômica e extracromossômica podem ser transferidas da geração M_1 (geração tratada pelo mutagênico) para gerações posteriores, já o efeito fisiológico pode ter natureza diversa, mas a causa provavelmente tem origem cromossômica e extracromossômica e a separação das duas geralmente não é possível. Para os propósitos do melhoramento genético, devem ser selecionados os mutagênicos que produzem baixo efeito fisiológico e alto efeito genético (GAUL, 1977). Todas as partes da planta podem ser tratadas pelos mutagênicos, mas a sensibilidade entre elas é variada. NILAN et al. (1961) enumeram as vantagens de se utilizar sementes para o tratamento com mutagênicos. De modo geral, essas seriam: facilidades encontradas no manuseio e controle dos fatores modificadores da radiosensitividade, e facilidades encontradas no tratamento pré- ou pós-irradiação. O efeito do mutagênico pode ser analisado por meio da altura de plântulas DIXIT & DUBEY (1986), das porcentagens de germinação e emergência OLEJNICKZAK & PATYNA (1981), e da sobrevivência (BAHL & GUPTA, 1982).

GAUL (1977) citou 8 critérios para a determinação do efeito mutagênico, sendo a medida da altura o critério mais simples e rápido para muitas espécies de planta. O autor citou também que as mutações de clorofila são efeitos importantes da radiação. Os efeitos dos mutagênicos na geração M_1 também podem ser analisados qualitativamente por meio das observações citológicas das aberrações cromossômicas na mitose e meiose (SPARROW, 1961). Na maioria dos programas de melhoramento de plantas por indução de mutação, é indispensável saber a letalidade de uma determinada dose antes que o tratamento mutagênico seja feito. Não existe um critério para se recomendar determinada percentagem de letalidade como a melhor para a indução de mutação mas, geralmente são escolhidas as doses que produzem de 30 a 50% de letalidade.

2.5 Classificação das variedades de arroz

De acôrdo com Ting¹, citado por CHEN et al. (1994), desde a antiguidade, raças locais e cultivares chineses melhorados de arroz têm sido classificados empiricamente de Hsien e Keng. Kato et al.², citado por OKA (1988), constataram que variedades japonesas e estrangeiras produziam híbridos F₁ estéreis e com caracteres diferentes; consideraram-as como pertencentes a duas subspécies as quais foram chamadas de japônica e indica. Entretanto, TERAOKA & MIZUSHIMA (1939) não consideraram a classificação das variedades de arroz em dois grupos separados pela afinidade sexual, mas em uma variação entre um extremo e outro, isto é, grupo I-a, I-b, I-c, II-b e III. No entanto, nem todos os pesquisadores estão de acôrdo com a classificação das variedades de arroz em subspécies indica e japônica e também com a nomenclatura dada a elas. As duas subspécies apresentam características com variação sobreposta e não há um critério simples que possa distinguí-las com certeza e, por isso, OKA (1988) prefere classificar as variedades em tipos ou grupos com nomes

¹TING, Y. The origin of chinese rice culture. **Agronomy Bulletin College Agriculture Chuguan University**, (7): 11-24, 1949.

²KATO, S.; KOSAKA H.; S. HARA; On the affinity of rice varieties as show by fertility of hybrid plants. **Bulletin Scientific Faculty Agricultural, Kyushu University**, Fukuoka, 3: 132-47, 1928.

próprios (Indica e Japônica). Cheng et al.¹ , citado por OKA (1988), consideram os nomes de Hsien e Keng ou hsien e keng mais apropriados para os tipos ou subespécies do que Indica e Japônica ou indica e japônica. Além disso, há propostas de mudanças da nomenclatura das subespécies. CHANG (1976) propôs a mudança de japônica para sinica por causa da origem das variedades japoneses na China enquanto que NAKAGAHARA (1977) usou sinica para designar variedades Hsien (Indica) cultivados na China. Alguns autores também afirmam que as variedades de arroz são classificadas em três grupos, Indica, Japônica e Javânica. Esta classificação foi dada inicialmente por Matsuo² , citado por TAKAHASHI (1984), que, baseando-se em 20 caracteres morfológicos incluindo as dimensões do comprimento e largura do grão, dividiu os cultivares em três tipos simbolizados de A, B, e C, distribuídos respectivamente no Japão, Java e Índia. Os três tipos não eram diferentes apenas no tamanho e formato do grão, mas também no tipo de planta e em vários caracteres agrônômicos. Oka³ , citado por OKA (1988), fez uma série de estudos sobre a

¹ CHENG, K.S.; WANG, X.K.; LU, Y.X.; LUO, J.; HUANG, N. W. Classification of *Oryza sativa* L. into *hsien* and *keng*.

Mimeogr. Paper, Yunnan Academy Agriculture Scientific, Kunming. 1986.

² MATSUO, T. Genecological studies on cultivated rice. **Bulletin National Institute Agricultural Scientific.** Tokyo, 3: 1-111, 1952.

³ OKA, H. I. Variation in various characters and character combinations among rice varieties, **Japanese Journal Breeding**, Tokyo, 3(2): 33-43, 1953.

diferenciação filogenética dos cultivares de arroz; investigando as características dos cultivares coletados nos países asiáticos, dividiu-os em dois grupos. O primeiro grupo, distribuído principalmente na Ásia continental tinha: menos arísta, era sensível ao clorato de potássio e a baixa temperatura, era resistente a seca e suas sementes apresentavam coloração em presença do fenol. Para as mesmas características citadas do primeiro grupo, o segundo grupo apresentava oposição em todas elas e eram distribuídos no Japão, ilhas Sunda, Celebes, Filipinas e regiões montanhosas de Formosa. Oka, classificou o primeiro grupo em "Continental" e o segundo em "Insular". Além disso, ele dividiu o grupo Insular em "tropical" e "temperado" de acordo com as características do endosperma, comprimento do primeiro internódio e divisão do comprimento pela largura do grão descascado. Na Tabela 1 pode ser visto como os grupos foram classificados pelos autores e na Tabela 2 as principais diferenças entre os três grupos. Segundo OKA (1988), todos os caracteres que classificam as variedades em Indica ou Japônica (caracteres diagnosticadores) não apresentam diferenças notáveis entre os tipos Japônica e Javânica. Além disso, GLASZMANN (1987) constatou que os dois tipos apresentavam as mesmas isoenzimas. Na falta de evidências para a colocação de Javânica na mesma posição que os tipos Indica e Japônica, OKA (1988) considerou-o como um subgrupo do grupo Japônica.

Tabela 1 - Classificação dos grupos de arroz cultivado por vários autores.

Grupos	Kato (1928)	Terao e Mizushima (1939)	Matsuo (1952)	Oka (1953)	Localização Principal
Japônica	Japônica	Grupo Ia Grupo Ib	A	Insular Temperado	Japão, Coréia
Javânica	-	Grupo Ic	B	Insular Tropical	Java
Indica	Indica	Grupo II Grupo III	C	Continental	Índia, China e Indonésia

Fonte: TAKAHASHI (1984)

Tabela 2 - Comparação dos grupos de arroz cultivado por meio de alguns caracteres agrônômicos.

Caracteres	Indica Tipo C	Javânica Tipo B	Japônica Tipo A
Grão			
Comprimento/largura	Estreito	Largo	Curto
Arista	Geralmente ausente	Geralmente presente	Presente em cv. nativos Ausente em cv. melhorados
Degrana	Fácil	Resistente	Resistente
Tipo de planta			
nº de perfilhos	Grande	Pequeno	Grande
altura de planta	Alta	Alta	Baixa
Características fisiológicas			
Resistência à:			
baixa temperatura	Sensível	Resistente	Resistente
seca	Resistente	Resistente à sensível	Sensível
clorato de potássio	Sensível	Resistente	Resistente
Reação ao fenol	Positivo	Negativo	Negativo

Fonte TAKAHASHI (1984)

Morinaga¹, citado por TAKAHASHI (1984), propôs a classificação dos variedades de arroz em várias ecoespécies e ecotipos (Tabela 3). Os dados obtidos por Morinaga em relação a afinidade sexual de seis ecotipos pertencentes a várias ecoespécies constataram que os ecotipos bulu e japoneses quando cruzados com aman e tjereh os híbridos apresentavam alta esterilidade.

Tabela 3 - Classificação do arroz cultivado em ecoespécies e ecotipos

Ecoespécies	Ecotipos
Indica	aus aman boro tjereh
Javânica	bulu cultivares italianos etc...
Japônica	cultivares japoneses (Japônica) nuda etc...

Fonte: TAKAHASHI (1984)

Cheng et al.², citado por OKA (1988), procuraram um esquema útil e racional para a avaliação e utilização de fontes de germoplasma e propuseram a

¹ MORINAGA, T. Origin and geographical distribution of japanese rice, **Japanese Agriculture Research Quartely**. 3(2): 1-5 , 1968.

² CHENG, K.S.; WANG, X.K.; LU, Y.X.; LUO, J.; HUANG, N. W. Classification of *Oryza sativa* L. into *hsien* and *keng*. Mimeogr. Paper, Yunnan Academy Agriculture Scientific, Kunming. 1986.

classificação das variedades de arroz em duas subespécies cada uma dividida em poucos ecogrupos, a seguir:

1) Subespécie *hsien* (*indica*) Ecogrupo
(aman, Boro e Aus);

2) Subespécie *Keng* (*japônica*) Ecogrupo
(*communis*, nuda e javânica).

2.6 Critérios de classificação dos grupos de arroz

A classificação das variedades de arroz em grupos pode ser feita por meio de vários caracteres, mas todos apresentam amplitude de variação sobreposta. O formato ou a relação do comprimento/largura da espiguetta têm sido considerado como critério. A probabilidade de classificação errada das variedades entre os grupos Indica e Japonica por este critério é de 39%, demonstrando ser pouco seguro (MORISHIMA & OKA, 1981). Há outros critérios que podem ser utilizados em sementes e apresentam uma classificação mais exata e são eles:

1) reação a fenol; 2) resistência à baixa temperatura; 3) resistência ao clorato de potássio; 4) resistência a seca; 5) teste do álcali.

MORINAGA & KURIYAMA (1958) testaram a reação ao fenol em seis ecotipos de arroz; sementes do grupo indica mostraram reação ao fenol (coloração) o que não aconteceu com sementes de japônica e javânica. Os autores analisaram também o efeito causado pelo álcali nos três grupos de arroz, o grupo japônica se decompôs mais facilmente do que os outros dois sendo o grupo indica o mais resistente de todos. Segundo TAKAHASHI (1984), a diferença básica entre japônica e indica poderão ser esclarecidas no futuro se os fatores bioquímicos e genéticos envolvidos na reação ao fenol forem identificados. A resistência ao clorato de potássio também

é diferente entre as variedades dos grupos indica e japônica, sendo o primeiro mais suscetível ao tóxico (OKA, 1958). Oka e Chang¹, citados por OKA (1988), afirmam que a combinação de dois ou mais caracteres (em análise multivariada) aumenta o poder discriminante entre os grupos indica e japônica. Para os grupos japônica e javânica, esta combinação não é apropriada para discriminá-los. MORISHIMA & OKA (1981) estimaram a capacidade de discriminação de nove caracteres. Os resultados revelaram que a resistência ao clorato de potássio, resistência a seca, comprimento da apícula e sensibilidade ao frio têm alto poder discriminante (Tabela 4).

Tabela 4 - Probabilidade de classificação errada dos cultivares de arroz em grupos indica e japônica por diferentes caracteres.

Caráter	Média ± σ		p(%)
	Indica (n=42)	Japônica (n=47)	
K:resistência ao clorato de potássio	-3,34 ± 0,60	-1,49 ± 0,35	2,9
D:resistência a seca	1,88 ± 0,45	3,04 ± 0,46	10,2
H:comprimento da apícula	0,26 ± 0,06	0,44 ± 0,22	13,5
C:sensibilidade ao frio	0,58 ± 0,18	0,18 ± 0,22	15,7
A:teste do álcali	1,25 ± 0,59	2,82 ± 1,41	23,3
S:comprimento/largura da espigeta	2,77 ± 0,42	2,54 ± 0,41	39,0
"Escores" discriminantes:			
X ₁ =-K+1,72C-0,47H	4,18 ± 0,66	1,56 ± 0,48	1,2
X ₂ =-K+1,94C-0,45H+1,54Ph	5,73 ± 0,78	1,78 ± 0,70	0,4

Fonte: MORISHIMA (1981)

¹ OKA, H. I.; CHANG, W. T. Rice varieties intermediate between wild and cultivated forms and origin of the Japonica type. Botany Bulletin Academy Sinica. 5: 120-138, 1962.

2.6.1 Diferenças entre os grupos Indica e Japônica

2.6.1.1 Caracteres agronômicos e resistência à doenças

Segundo OKA (1988), os grupos Indica e Japônica diferem em muitos caracteres agronômicos importantes apesar da amplitude de variação sobreposta, que são os seguintes:

Caráter	Indica	Japônica
Resistência de plântulas ao frio	baixa	alta
Resistência de plântulas à seca	alta	baixa
Resistência ao acamamento (var. melhoradas)	baixa	alta
Resposta em produção	baixa	alta
Aproveitamento do nitrogênio pelas plântulas	alto	baixo
Habilidade competitiva	alta	baixa
Temperatura mínima para germinação	alta	baixa
Longevidade das sementes armazenadas	longa	curta

Outras características também podem apresentar diferenças entre variedades dos grupos Indica e Japônica. SUNDARU et al. (1983) verificaram que variedades

Indicas são mais suscetíveis ao herbicida (2,4-D) do que variedades Japônicas. Em relação a resistência à doenças, como exemplo ao fungo *Piricularia oryzae*, os cultivares de arroz apresentam resistência específica à raça. MORISHIMA (1969) analisou a reação de 484 cultivares de arroz à 21 raças do fungo de vários países. A análise de componentes principais constatou que as raças foram divididas em dois grupos, um tendendo ser patogênico às cultivares Indicas e o outro às Japônicas sugerindo assim, que Indica e Japônica têm genes diferentes para reação ao fungo.

2.6.1.2 Hibridação

O cruzamento entre cultivares de *Oryza sativa* produz pólenes F_1 com fertilidade variando de 100 a 5% ou menos, dependendo da combinação. Geralmente, os híbridos de Indica e Japônica mostram maiores freqüências de esterilidade do F_1 do que o cruzamento entre variedades do mesmo grupo, mas a relação de esterilidade do híbrido é muito complexa para classificar as variedades em dois ou mais grupos distintos (TERAO & MIZUSHIMA, 1939). MORISHIMA & OKA, (1981) verificaram que a probabilidade de classificação errada entre os grupos Indica e Japônica pela esterilidade do híbrido F_1 varia de 23 a 43% dependendo da linhagem testadora. Os dois grupos possuem muitos genes diferentes e a hibridação entre eles produz uma segregação muito grande dificultando a seleção imediata de genótipos desejados. Entretanto, a transferência de genes entre os

dois grupos tem um papel importante no melhoramento, pois novas variedades resistentes à pragas e doenças podem surgir do complexo genealógico entre parentais Indica e Japônica envolvidos em diferentes proporções (OKA, 1988).

2.6.1.3 Distribuição Geográfica

A distribuição geográfica dos cultivares de arroz tem um papel importante na diferenciação entre os grupos Indica e Japônica. Em países de clima temperado como Japão, Coréia e Norte da China, os cultivares são exclusivamente do grupo Japônica. Na China, os cultivares principalmente ao norte do rio Yangtze são do grupo Japônicas e ao sul, Indica. No início, os pesquisadores afirmavam que o grupo Indica representava o arroz dos trópicos por causa da dominância em regiões tropicais e subtropicais, e Japônica o arroz de regiões temperadas. Entretanto, cultivares do grupo Japônica também são distribuídos nos trópicos. Ao norte da Tailândia assim como em Yunnan na China, há uma tendência de cultivares do grupo Indica serem encontradas nos vales e Japônica em colinas. Sabe-se que cultivares Japônicas são mais resistentes ao frio do que Indicas (OKA, 1988). Em Yunnan, LI & WANG (1986) analisaram 105 cultivares de arroz para tolerância ao frio em altitudes diferentes. Em uma área abaixo de 1.000 m foram encontrados cultivares do grupo Indica. Entre 1.000 e 1.500 m foram encontrados cultivares intermediários entre os dois grupos e acima de 1.500 m eram

exclusivamente do grupo Japônica. A estreita relação do grupo encontrado no planalto com a tendência da variação ser Japônica mostra que a origem de Japônica pode estar relacionada com a seleção adaptativa em condições de planalto.

2.6.1.4 Aspecto molecular

É bem conhecido que enzimas específicas isoladas de espécies e ecotipos diferentes têm uma grande variação de suas propriedades físicas e catalíticas. Além disso, dentro de uma espécie são encontradas duas ou mais formas de uma enzima. NAKAGAHARA et al. (1975) verificaram que linhagens de *Oryza sativa* mostraram uma grande variação em isoenzimas de esterase e uma distribuição geográfica clinal dos genótipos de esterase. Estes resultados indicaram a utilização de isoenzimas como marcadores genéticos para estimar o centro de diversidade genética do arroz cultivado. Os alelos de esterase são distribuídos em diversos grupos varietais e, por esse motivo, NAKAGAHARA (1977) propôs seu uso não apenas como marcadores genéticos, mas também para estudos de diferenciação varietal. A variabilidade isoenzimática é menor entre os cultivares de *Oryza sativa* do que entre os cultivares de *Oryza rufipogon*. Entre os grupos Indica e Japônica, o primeiro apresenta maior diversidade em alelos de isoenzimas. Provavelmente esta ocorrência é devida à distribuição do grupo Indica em planícies onde *Oryza rufipogon* é encontrado, tendo assim,

maiores chances de obter genes do arroz selvagem do que o grupo Japônica que é isolado (OKA, 1988). GLASZMANN (1987) investigou 15 locos polimórficos de isoenzimas de 1688 cultivares de arroz nativos de vários países asiáticos. A análise dos dados indicou a formação de seis grupos isoenzimáticos. Quando comparados aos grupos classificados por OKA (1958), os dois maiores grupos corresponderam a Indica e Japônica, mostrando a concordância dos caracteres quantitativos com os grupos enzimáticos. A análise de variação do DNA tem provado ser útil na elucidação da diferenciação genética e relação filogenética entre táxons. PENTAL & BARNES (1985) demonstraram a diferenciação entre variedades de arroz diplóide com genoma A utilizando seqüências repetitivas do DNA nuclear. ZHAO et al. (1989) também analisaram as seqüências repetitivas do DNA nuclear de espécies de *Oryza* com genoma específico. Os resultados deste trabalho indicaram o uso de seqüências repetitivas como marcadores moleculares de espécies ou genoma. A variação do DNA cloroplastidial também tem sido analisado. DALLY & SECOND (1990) afirmam que a análise do DNA cloroplastidial é um método útil para estudos filogenéticos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

O Departamento de Genética da ESALQ/USP, mantém uma coleção de germoplasmas de arroz de sequeiro (*Oryza sativa* L.) procedentes: da Estação Experimental de Arroz de Sequeiro do Japão, do International Rice Research Institute (IRRI) das Filipinas, do Departamento Agrônômico de Campinas (IAC) e do Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP)/EMBRAPA, Goiânia-GO, ambos do Brasil. Em 1990, a coleção toda foi renovada no campo experimental do próprio departamento. No período de março a abril, as sementes de cada germoplasma foram coletadas separadamente, pesadas e armazenadas em condições ambientais. Foram selecionados 90 germoplasmas, todos com ($2n=24$) cromossomos, entre procedentes japoneses, filipinos e brasileiros mais adaptados às condições climáticas de Piracicaba baseando-se na maior produção de grãos. Os germoplasmas são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Germoplasmas japoneses, filipinos e brasileiros utilizados no presente trabalho.

Número	Nome	Procedência
01	Senshou	Japão
02	Oohata	"
03	Habiro	"
04	Iwate Hata Mochi	"
05	Kyuushuu	"
06	Oohata Mochi	"
07	Kinryuu	"
08	Nasukogane	"
09	Kurasawa	"
10	Yonoyuki Mochi	"

continua.

Tabela 5 - Continuação

Número	Nome	Procedência
11	Terenzu	Japão
12	Gaisen Mochi	"
13	Owari Hata Mochi	"
14	Nourin 5	"
15	Hakamuri	"
16	Esojima	"
17	Nourin Mochi 17	"
18	Col/Fukui/1965	"
19	Bansei Mochi	"
20	Tomoe Mochi	"
21	Nourin 16	"
22	Akayakan	"
23	Kahee	"
24	Ishiwari Mochi	"
25	Hakabou Aikoku	"
26	Urasan	"
27	Yakari	"
28	Bansei Tarou	"
29	Kurohige	"
30	Korotou Mochi	"
31	E 425	IRRI
32	Matopu Garatas	"
33	Daja	"
34	Ketek	"
35	Sono Atom	"
36	Rusip	"
37	Lokan	"
38	Ketji	"
39	Serung	"
40	Menurun	"
41	Majangan	"
42	Lembese	"
43	Tjempo Tsino	"
44	Khao Sum neua 2	"
45	Khao Phe	"
46	Khao Khay	"
47	Khao Noi	"
48	Daw Pao	"
49	Mah Nam Pui	"
50	Pah Yan	"

continua.

Tabela 5 - Continuação

Número	Nome	Procedência
51	Khao Deng	IRRI
52	Lai Luang	"
53	Khao Khao	"
54	Graboon	"
55	Khao Seng	"
56	Khao Mai Khai	"
57	Wiang	"
58	Betete	"
59	Ketan Cere	"
60	Selibon Siangan	"
61	Bico Ganga	CNPAF
62	Guaíra	"
63	Dourado Precoces	"
64	Amarelão	"
65	Pratão Precoces	"
66	IPSL 469	"
67	IPSL 2270	"
68	Iguapão	"
69	Iguape	"
70	IAC 416	IAC
71	Montanha Liso	CNPAF
72	Pérola de Campinas	"
73	Guapinha	"
74	Agulha ESAV	"
75	Dourado Liso	IAC
76	Jaguarí	"
77	Cateto Dourado	"
78	Dourado Seco	"
79	Matão Branco	"
80	Pratão de Campinas	"
81	Pindorama	"
82	Dourado Agulha 2	"
83	Biriguí	"
84	9-v-11	"
85	11-v-22	"
86	11-v-26	"
87	IAC 5065	"
88	IAC 5128	"
89	Enche Tulha	CNPAF
90	Mogi	"

3.2 Métodos

3.2.1 Determinação da radiosensitividade em plântulas M_1

No período dezembro de 1991 a dezembro de 1992, excetuando os meses de junho a agosto por causa do frio, foram feitos 15 experimentos com seis germoplasmas cada. Amostras de sementes secas, uniformes e com 14% de teor de umidade foram submetidas a exposição aguda de radiação gama nas dosagens de 60, 120, 180, 240, 300 e 360 Gy utilizando-se como fonte de raios gama (^{60}Co) o irradiador Gammabeam 650 do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo (USP). A taxa de dose variou de um experimento para o outro, sendo a mínima de 1070 Gy/hora e a máxima de 1270 Gy/hora, mantendo-se constante a distância do material em relação à fonte. As amostras irradiadas e o controle não irradiado foram semeadas imediatamente após a irradiação em caixas de madeira de 1,10 x 1,26m com terra preparada, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado com três repetições e 25 sementes por parcela. Todos os experimentos foram feitos em casa de vegetação. A medida da radiosensitividade de plântulas M_1 foi feita aos 7, 10 e 30 dias após semeadura anotando-se respectivamente:

- 1) Número de plântulas emergentes com 5 mm ou mais de altura (**Emer**);

- 2) Altura das plântulas, medindo-se do solo até o ponto mais alto da folha maior (**Alt**);
- 3) Número de plântulas sobreviventes (**Emer**).

3.2.2 Análise univariada

De cada parcela foram obtidos os dados das porcentagens de emergência e sobrevivência e das médias aritméticas estimadas de altura. A análise dos dados de todos os caracteres foi baseada no seguinte modelo:

$$\bar{Y}_{ijk} = m + g_i + v_{(i)j} + d_k + gd_{ik} + vd_{(i)jk} + e_{ijk}$$

onde:

$\bar{Y}_{ijk}$: é o valor observado referente à parcela que recebeu o germoplasma j, do grupo i com a dosagem k;

m: é a média geral;

g_i : é efeito fixo de grupo i, (i=1,2,3);

$v_{(i)j}$: é o efeito fixo do germoplasma j dentro do grupo i (j=1,...,j);

d_k : é o efeito fixo da dose k, (k=1,...,k);

gd_{ik} : é o efeito fixo da interação do grupo i com a dose k,;

$vd_{(i)jk}$: é o efeito fixo da interação do germoplasma j com a dose k no grupo i;

e_{ijk} : erro médio associado à observação $\bar{Y}_{ijk}$.

O esquema da análise de variância é dado na (Tabela 6).

Tabela 6 - Esquema da análise de variância.

Fontes de variação	G.L.	Q.M.	F
Grupos	$i-1$	Q1	Q1/Q6
germpl/grupos	$i(j-1)$	Q2	Q2/Q6
dose	$(k-1)$	Q3	Q3/Q6
grupo x dose	$(i-1)(k-1)$	Q4	Q4/Q6
germpl x dose/grupo	$i(j-1)(k-1)$	Q5	Q5/Q6
erro	$jkl(r-1)$	Q6	
Total	$ijk r-1$		

3.2.3 Analise multivariada

Visando detectar diferenças entre os grupos de germoplasmas arroz em cada dose, incluindo o controle, realizou-se três análises multivariada com as três variáveis simultaneamente. Inicialmente, foram obtidas as matrizes de somas de quadrados e de produtos de grupos (H), e do resíduo (E). Para detectar diferenças significativas entre vetores de médias dos grupos, foi utilizada a estatística Λ de Wilks (WILKS, 1932). Para facilitar a visualização da distribuição dos grupos em espaço bidimensional, procedeu-se a construção de gráficos com as primeiras variáveis canônicas de cada dosagem. Vários livros-texto demonstram a técnica. No presente trabalho foi utilizada a técnica abordada por RAO (1973), onde as variáveis originais são transformadas em um conjunto de variáveis denominadas canônicas de menor tamanho que o primeiro conjunto das originais. A terceira análise

multivariada foi feita para calcular a probabilidade de classificação errada dos germoplasmas em grupos por meio da sensibilidade à radiação gama, utilizando-se a função discriminante descrita por RAO (1973). As três técnicas de análises multivariada foram feitas utilizando-se respectivamente os seguintes procedimentos: manova, candisc e discrim, cujos programas estatísticos de computação foram desenvolvidos pelo SAS Institute Inc., Cary North Carolina, USA.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise univariada

O resultado da análise de variância univariada detectou diferenças significativas entre médias: de grupo, de germoplasmas dentro de grupo, de doses, e das interações de grupo x dose e de germoplasmas x dose dentro de grupo, a 1 % de probabilidade para todos os caracteres avaliados (Tabela 7). O valor de F significativo para altura já era esperado, uma vez que entre cultivares e entre grupos foram observadas aparentemente as diferenças. Geralmente, cultivares do grupos Indica e Javânica são mais altos do que Japônica. Em relação às diferenças encontradas em porcentagem de emergência, este fato pode estar relacionado com o grau de dormência das sementes. No presente trabalho não foi medido a velocidade de germinação em períodos diferentes, mas de acordo com Roberts¹, citado por TAKAHASHI (1984), em cultivares do grupo Japônica foi encontrado menor grau de dormência do que em cultivares do grupo Indica. Entre doses, as diferenças encontradas também são muito comuns em experimentos utilizando-se mutagênicos. De acordo com o objetivo do presente trabalho, foram encontradas diferenças para as interações de germoplasmas x dose dentro de grupos e de grupos x doses, comprovando que os germoplasmas e os grupos responderam diferentemente em relação às dosagens do mutagênico, existindo portanto,

¹ ROBERTS, E. H. *Annals Botany*, 27: 365-7, 1963

Tabela 7 - Resumo da análise de variância univariada de emergência, altura e sobrevivência de plântulas M₁ de 90 germoplasma de arroz de sequeiro com doses diferentes de raios gama em experimento com delineado inteiramente ao acaso com três repetições, durante o período de 1991-92, Piracicaba, SP.

F.V.	G.L.	Q.M.		
		(EMER)	(ALT)	(SOBR)
grupos	2	3719,57**	17,71**	3688,09**
germopl/grupo	87	866,71**	74,31**	1290,84**
doses	6	3189,45**	1330,20**	5891,14**
gruposxdoses	12	209,83**	5,46*	158,14**
germopl x dose/grupo	522	134,92**	7,74**	144,36**
resíduo	1260	74,77	1,20	71,90
Média		67,29	10,98	65,15
C.V.		12,85	9,98	13,01

* e ** valores de F significativos aos níveis de 5% e 1% de probabilidade, respectivamente.

diferenças de radiosensitividade entre eles. A identificação dos fatores responsáveis pelas diferenças varietais de radiosensitividade entre germoplasmas e entre grupos não é uma tarefa fácil. Neste caso, a porcentagem de umidade das sementes não poderia ser a responsável por causa da uniformidade. De acordo com Conger (1976), a ausência ou a baixa concentração de enzimas reparadoras e de catalases e peroxidases que decompõem produtos da radiação podem provocar aumento da radiosensitividade.

4.2. Avaliação da radiosensitividade da geração M₁

No presente estudo, foi feita a comparação das médias dentro e entre grupos pelo teste de Tukey para todos os caracteres (Tabelas 8 e 9).

Inicialmente, avaliando-se a emergência na Tabela 8, os resultados do teste de Tukey constataram que, para os grupos de germoplasmas japoneses, filipinos e brasileiros até as doses de 60, 180 e 180 Gy respectivamente, os números de plântulas M₁ emergidas não diferiram significativamente em relação ao controle.

A redução da emergência de plântulas M₁ observada pode ser atribuída aos efeitos fisiológicos de origem cromossômica e extracromossômica (GAUL, 1977).

Avaliando-se a altura, na Tabela 8, os resultados do teste de Tukey constataram que, para os grupos japonês, filipino e brasileiro, respectivamente, até as dosagens de 60, 120 e 60 Gy não diferiu significativamente em relação ao controle. A redução da altura também é atribuída a fatores fisiológicos, já constatada em vários trabalhos. Para este caráter a GR 50 (dose que causa 50% de redução de altura) foi alcançada na dose de 360 Gy.

Para sobrevivência, na Tabela 8, os resultados constataram que, para os grupos japonês, filipino e brasileiro, até as doses de 60, 240 e 180Gy

Tabela 8 - Médias ($\bar{x}$), desvios padrão (σ) e teste de Tukey para emergência (Emer)^{1/}, altura (Alt) e sobrevivência (Sobr)^{1/} dentro de cada grupo em função das doses de radiação gama aplicadas em arroz, durante o período de 1991-92. Piracicaba, SP.

Caráter	Dose/Gy	Japonês n=30 ^{2/}			Filipino n=30			Brasileiro n=30		
		$\bar{x}$	σ		$\bar{x}$	σ		$\bar{x}$	σ	
Emer	0	70,61 ^{a3/}	±13,56	(100,00) ^{4/}	74,61 ^a	±10,54	(100,00)	71,70 ^a	±10,16	(100,00)
	60	64,67 ^{ab}	±11,38	(96,49)	72,63 ^{ab}	±11,42	(97,35)	71,89 ^a	±11,25	(99,98)
	120	68,13 ^{bc}	±10,55	(92,10)	70,53 ^{ab}	±11,25	(96,05)	69,97 ^{ab}	±11,05	(97,32)
	180	65,03 ^{bc}	±11,38	(91,59)	71,66 ^{abc}	±11,43	(94,53)	66,67 ^{ab}	±11,08	(96,90)
	240	62,55 ^{bc}	±9,89	(90,40)	68,76 ^{bcd}	±10,86	(92,16)	66,43 ^{bc}	±12,64	(92,95)
	300	63,82 ^{cd}	±10,78	(88,59)	66,24 ^{cd}	±11,21	(88,77)	63,81 ^{cd}	±12,90	(88,75)
	360	60,62 ^d	±10,54	(85,85)	65,02 ^d	±12,84	(87,16)	61,10 ^d	±12,87	(84,98)
	CV	10,26			11,30			13,30		
	DMS	15,74			17,30			18,00		
Alt	0	13,03 ^a	±2,14	(100,00)	12,89 ^a	±3,05	(100,00)	13,12 ^a	±2,45	(100,00)
	60	13,07 ^a	±2,21	(99,77)	12,75 ^a	±2,98	(98,91)	12,79 ^{ab}	±2,53	(97,41)
	120	12,07 ^b	±2,61	(92,35)	12,42 ^a	±2,32	(96,35)	12,24 ^{bc}	±2,42	(93,22)
	180	11,94 ^b	±2,67	(91,43)	11,34 ^b	±2,50	(87,98)	12,08 ^c	±2,62	(92,00)
	240	11,04 ^c	±3,00	(84,47)	10,64 ^b	±2,41	(82,54)	10,52 ^d	±2,47	(80,20)
	300	9,30 ^d	±2,67	(71,16)	8,89 ^c	±2,32	(68,97)	9,10 ^e	±2,44	(69,31)
	360	7,46 ^e	±2,60	(57,15)	6,68 ^d	±2,44	(51,82)	6,66 ^f	±2,13	(50,72)
	CV	16,21			16,76			15,34		
	DMS	0,81			0,69			0,70		
Sobr	0	67,99 ^a	±13,02	(100,00)	71,44 ^a	±10,17	(100,00)	71,09 ^a	±10,79	(100,00)
	60	67,63 ^{ab}	±12,09	(99,18)	70,88 ^a	±10,55	(99,22)	70,40 ^a	±11,95	(99,03)
	120	67,42 ^{bc}	±11,90	(93,79)	70,05 ^a	±11,24	(98,31)	69,82 ^{ab}	±10,71	(98,21)
	180	63,77 ^{bc}	±12,18	(93,60)	76,23 ^a	±10,45	(98,05)	67,07 ^{ab}	±10,1	(94,36)
	240	60,77 ^c	±13,70	(89,38)	67,15 ^{ab}	±11,56	(93,98)	65,96 ^{bc}	±12,86	(92,78)
	300	60,61 ^c	±13,58	(89,15)	64,54 ^b	±11,98	(90,34)	61,84 ^c	±12,95	(86,99)
	360	60,61 ^c	±13,58	(89,15)	64,54 ^b	±11,98	(90,34)	61,84 ^c	±12,95	(86,99)
	CV	10,10			12,10			14,00		
	DMS	18,00			17,00			19,00		

1/ Dados transformados em arco seno $\sqrt{p/100}$.

2/ Número de germoplasmas avaliados em cada grupo.

3/ As médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

4/ Valores entre parênteses indicam as porcentagens médias em relação ao controle considerado como 100%.

Tabela 9 - Médias ($\bar{x}$), desvios padrão (σ) e teste de Tukey para emergência (Emer)^{1/}, altura (Alt) e sobrevivência (Sobr)^{1/} entre grupos em função das doses de radiação gama aplicadas em arroz, durante o período de 1991-92. Piracicaba, SP.

Caráter	Dose/Gy	Japonês n=30 ^{2/}		Filipino n=30		Brasileiro n=30		CV	DMS
		$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ	$\bar{x}$	σ		
Emer	0	70,61 ^{b3/}	±13,56	74,61 ^a	±10,54	71,70 ^{ab}	±10,16	15,34	4,34
	60	64,67 ^b	±11,38	72,63 ^a	±11,42	71,89 ^a	±11,25	15,67	4,26
	120	68,13 ^b	±10,55	70,53 ^a	±11,25	69,97 ^a	±11,05	15,06	4,08
	180	65,03 ^b	±11,38	71,66 ^a	±11,43	66,67 ^{ab}	±11,08	16,48	4,45
	240	62,55 ^b	±9,89	68,76 ^a	±10,86	66,43 ^{ab}	±12,64	17,01	4,41
	300	63,82 ^a	±10,78	66,24 ^a	±11,21	63,81 ^a	±12,90	18,74	4,48
	360	60,62 ^b	±10,54	65,02 ^a	±12,84	61,10 ^b	±12,87	18,47	4,50
Alt	0	13,03 ^a	±2,14	12,89 ^a	±3,05	13,12 ^a	±2,45	20,07	1,03
	60	13,07 ^a	±2,21	12,75 ^a	±2,98	12,79 ^{ab}	±2,53	19,84	1,02
	120	12,07 ^a	±2,61	12,42 ^a	±2,32	12,24 ^a	±2,42	20,15	0,99
	180	11,94 ^a	±2,67	11,34 ^b	±2,50	12,08 ^{ab}	±2,62	20,10	0,95
	240	11,04 ^a	±3,00	10,64 ^b	±2,41	10,52 ^b	±2,47	21,91	0,94
	300	9,30 ^a	±2,67	8,89 ^b	±2,32	9,10 ^b	±2,44	23,12	0,86
	360	7,46 ^a	±2,60	6,68 ^b	±2,44	6,66 ^b	±2,13	29,14	0,81
Sobr	0	67,99 ^a	±13,02	71,44 ^a	±10,17	71,09 ^a	±10,79	15,61	4,28
	60	67,63 ^b	±12,09	70,88 ^a	±10,55	70,40 ^a	±11,95	15,98	4,26
	120	67,42 ^b	±11,90	70,05 ^a	±11,24	69,82 ^a	±10,71	16,18	4,37
	180	63,77 ^b	±12,18	76,23 ^a	±10,45	67,07 ^{ab}	±10,10	16,81	4,45
	240	60,77 ^b	±13,70	67,15 ^a	±11,56	65,96 ^a	±12,86	20,19	5,10
	300	60,61 ^a	±13,58	64,54 ^a	±11,98	61,84 ^a	±12,95	20,60	5,04
	360	55,50 ^a	±12,88	58,38 ^a	±12,20	56,13 ^a	±15,43	24,29	5,36

1/ Dados transformados em arco seno $\sqrt{p/100}$.

2/ Número de germoplasmas avaliados em cada grupo.

3/ As médias seguidas pelas mesmas letras na linha não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5%.

respectivamente os números de plantas M_1 sobreviventes não diferiram em relação ao controle.

Nas Figuras 1, 2 e 3 pode ser observado como os grupos foram afetados pela radiação em cada caráter. Analisando-se, de modo geral estes gráficos, pode-se dizer que os grupos apresentam diferenças, entretanto, estas diferenças não são marcantes. Por isso, julgou-se necessário que a comparação entre grupos fosse feita por dose e em cada caráter, objetivando encontrar pelo menos uma dose e um caráter em que os três grupos pudessem ser distinguidos. A comparação de médias de doses entre os grupos de germoplasmas japoneses, filipinos e brasileiros pelo teste de Tukey para emergência, altura e sobrevivência estão na (Tabela 9).

Em termos gerais, na Tabela 9, os três caracteres analisados nas respectivas dosagens de raios gama não apresentam grandes diferenças. Entretanto, para emergência, o grupo filipino é diferente do grupo japonês em todas as dosagens com exceção de 300 Gy. O grupo brasileiro, por sua vez, apresenta um comportamento semelhante na maioria das vezes aos grupos japonês e filipino dependendo da dose. Assim, ele é igual ao filipino para todas as dosagens exceto para a dosagem de 360 Gy, e, igual ao japonês nas dosagens de 180, 240, 300 e 360 Gy.

Os grupos não apresentam diferenças sem a irradiação.

Figura 1 - Relação entre doses de radiação gama e porcentagem média de emergência de plântulas M1 em relação ao controle considerado como 100%.

Figura 2 - Relação entre doses de radiação gama e altura média de plântulas M1 em relação ao controle considerado como 100%.

Figura 3 - Relação entre doses de radiação gama e porcentagem média de sobrevivência de plântulas M1 em relação ao controle considerado como 100%.

A dose de 360 Gy reduziu a emergência dos grupos japonês, filipino e brasileiro, respectivamente, a 85,5%, 87,17% e 84,98% não havendo diferenças entre eles.

Para o caráter altura o teste de (Tukey), na Tabela 9, constatou que até a dosagem de 120 Gy os grupos não apresentaram diferenças entre si. A partir da dose 180 Gy o grupo filipino difere do grupo japonês em todas as doses e não difere do grupo brasileiro nas mesmas doses. O grupo brasileiro por sua vez difere do grupo japonês nas dosagens de 240, 300 e 360 Gy.

A dose de 360 Gy reduziu a altura dos grupos japonês, filino e brasileiro, respectivamente a 57,17%, 51,82% e 50,72% não havendo, portanto, diferenças entre eles.

Para sobrevivência, o teste de Tukey constatou que, os grupos filipinos e brasileiros são iguais em todas as dosagens. O grupo japonês por sua vez não difere do grupo filipino das dosagens 0, 300 e 360 Gy, e não difere do grupo brasileiro nas dosagens de 0, 180, 240, 300 e 360 Gy. A dose de 360 Gy reduziu a sobrevivência dos grupos Japonês, filipino e brasileiro, respectivamente, a 81,86%, 81,72% e 78,96% não havendo diferenças entre eles.

É importante ressaltar que, o caráter altura foi mais afetado pela radiação e também o que menos contribuiu para as diferenças globais entre os grupos. O caráter emergência foi o menos afetado pela radiação.

Os resultados apresentados em relação às reduções de altura e sobrevivência não estão de acordo com os resultados encontrados respectivamente por FUJII (1962) e SIDDIQ & SWAMINATHNAM et al. (1968). Estes autores constataram que variedades do grupo Japônica são mais sensíveis à radiação gama do que variedades do grupo Indica. RAMARATHNAM et al. (1989) constataram que a casca do arroz não é apenas um protetor físico do embrião contra os efeitos diretos da radiação, mas também como protetor químico onde os lipídeos ficam protegidos dos efeitos da oxidação induzidos pela radiação. Este sistema protetor, segundo estes autores, seria relativamente mais eficiente em variedades do grupo Indica do que em variedades do grupo Japônica.

Entretanto, deve ser ressaltado que, todos os autores citados anteriormente utilizaram poucas variedades na comparação entre radiosensitividade entre Indica e Japônica. Supõe-se que deve haver uma grande variação de radiosensitividade nestes grupos.

No presente trabalho, as semelhanças de comportamento verificada entre os grupos nas dosagens consideradas podem ser explicadas pela origem dos grupos.

Segundo teorias, o grupos Indica e Japônica tiveram origem a partir de um ancestral comum. O grupo Javânica é considerado um subgrupo de Japônica. Sendo assim, entre os grupos Indica, Japônica e Javânica existem

semelhanças genéticas. Esta semelhança também foi demonstrada no presente trabalho pela radiosensitividade dos grupos. Das considerações anteriores podemos dizer que os germoplasmas de origem brasileira têm um comportamento similar para radiosensitividade em relação aos grupos filipinos e japoneses, ou seja, ora é semelhante ao grupo filipino e em outras, semelhante ao grupo japonês dependendo da dosagem utilizada. Este comportamento é semelhante ao grupo Javânica que tem sido considerado intermediário em características genéticas entre os grupos Indica e Japônica.

2.3. Análises multivariada

No presente trabalho, foi feita uma análise de variância multivariada utilizando-se as três variáveis para cada dosagem com a finalidade de verificar o comportamento dos grupos nestas doses. Com base na estatística de Wilks, o valor de F detectou diferenças significativas a 5% de probabilidade entre vetores de médias dos grupos nas dosagens de 60 Gy ($F = 2,38$ para 6 e 170 graus de liberdade) e 180 Gy ($F = 2,01$ para 6 e 170 graus de liberdade). O fato de ter sido encontrada significância para as doses de 60 e 180 Gy e não para 120 Gy, que é uma dose intermediária, significa que não existe uma regularidade da resposta dos grupos à radiação gama do ponto de vista multivariado. No presente estudo também foram feitos sete gráficos, um para cada dose, utilizando-

se as primeiras variáveis canônicas para os três caracteres avaliados. Nas Figuras de 4 a 10, pode ser verificado que em nenhuma dose os grupos japonês, filipino e brasileiro puderam ser discriminados. Isto significa que os grupos apresentam variação sobrepostas para todas os caracteres avaliados, já demonstrada anteriormente pelo teste de Tukey (Tabela 9). Nas doses de 60 e 180 Gy, pode ser verificado que a média das primeiras variáveis canônicas do grupo japonês se distancia um pouco mais das médias dos demais grupos. As primeiras variáveis canônicas das doses 60 e 180 Gy explicam respectivamente (95% e 5%) e (86% e 4%) da variação total disponível. Estes altos valores já eram esperados uma vez que foram medidos apenas três caracteres.

Neste estudo, também foi feito o cálculo de probabilidade de classificação errada dos germoplasmas em grupos japonês, filipino e brasileiro pela função discriminante de cada dose. Para reclassificar um germoplasma qualquer em um dos grupos japonês, filipino e brasileiro o cálculo é muito simples. Tomando-se por exemplo a dose de 60 Gy as funções discriminantes para os grupos japonês, filipino e brasileiro respectivamente são as seguinte:

$$X_1 = -40,31 + 2,30a + 0,54e + 0,23s;$$

$$X_2 = -46,04 + 2,24a + 0,65e + 0,22s;$$

$$X_3 = -45,55 + 2,25a + 0,63e + 0,23s;$$

CAN2

Figura 4 - Dispersão dos 90 germoplasmas de arroz pertencentes aos grupos japonês (1), filipino (2) e brasileiro (3) baseado nas primeiras variáveis canônicas obtidos de altura, emergência e sobrevivência na dose 0 Gy. Números em algarismos romanos representam as médias das variáveis canônicas de grupos.

CAN2

Figura 5 - Dispersão dos 90 germoplasmas de arroz pertencentes aos grupos japones (1), filipino (2) e brasileiro (3) baseado nas primeiras variáveis canônicas obtidos de altura, emergência e sobrevivência na dose 60 Gy. Números em algarismos romanos representam as médias das variáveis canônicas de grupos.

CAN2

Figura 6 - Dispersão dos 90 germoplasmas de arroz pertencentes aos grupos japoneses (1), filipino (2) e brasileiro (3) baseado nas primeiras variáveis canônicas obtidos de altura, emergência e sobrevivência na dose 120 Gy. Números em algarismos romanos representam as médias das variáveis canônicas de grupos.

CAN2

Figura 8 - Dispersão dos 90 germoplasmas de arroz pertencentes aos grupos japoneses (1), filipino (2) e brasileiro (3) baseado nas primeiras variáveis canônicas obtidos de altura, emergência e sobrevivência na dose 240 Gy. Números em algarismos romanos representam as médias das variáveis canônicas de grupos.

CAN2

Figura 9 - Dispersão dos 90 germoplasmas de arroz pertencentes aos grupos japoneses (1), filipino (2) e brasileiro (3) baseado nas primeiras variáveis canônicas obtidos de altura, emergência e sobrevivência na dose 300 Gy. Números em algarismos romanos representam as médias das variáveis canônicas de grupos.

CAN2

Figura 10 - Dispersão dos 90 germoplasmas de arroz pertencentes aos grupos japoneses (1), filipino (2) e brasileiro (3) baseado nas primeiras variáveis canônicas obtidas de altura, emergência e sobrevivência na dose 360 Gy. Números em algarismos romanos representam as médias das variáveis canônicas de grupos.

onde a , e e s são respectivamente valores de médias de altura, emergência e sobrevivência. Tomando-se o germoplasma Senshou cujos valores médios de altura, emergência e sobrevivência na dose 60 Gy são respectivamente, 13,90; 69,27 e 70,90. Aplicando-se cada um destes valores na função discriminante de cada grupo obtêm-se: $X_1 = 45,37$; $X_2 = 38,09$; $X_3 = 45,67$. O maior valor observado indica a maior probabilidade de senshou que é de origem japonesa ser agrupado no grupo brasileiro.

Na Tabela 10 pode, ser visto a probabilidade de classificação errada dos germoplasmas em grupos japonês, filipino e brasileiro nas diferentes doses.

Os resultados da Tabela 10 constatarem de modo geral, que a probabilidade de classificação errada nas doses consideradas em relação ao controle não variaram.

Os valores observados em cada dose indicam a classificação ao acaso dos germoplasmas em grupos japonês, filipino e brasileiro, mostrando que a radiosensitividade não influenciou na reclassificação dos germoplasmas em grupos de origem.

Talvez, resultados mais positivos possam ser obtidos com a avaliação de maior número de caracteres e com a utilização de outras metodologias estatísticas que possam detectar diferenças entre os grupos. A diferença no espectro de mutações entre os grupos também poderia ser testada.

Tabela 10 - Probabilidade de classificação errada (p%) em grupos japonês, filipino e brasileiro pelos caracteres de emergência, altura e sobrevivência nas diferentes dosagens.

Dose (Gy)	(P%)
0	53,00
60	53,00
120	67,00
180	55,00
240	55,00
300	57,00
360	61,00

5. CONCLUSÕES

O presente trabalho permitiu as seguintes conclusões:

- 1) Dentro e entre grupos de germoplasmas procedentes do Japão, Filipinas e Brasil há diferenças de radiosensitividade;
- 2) A análise multivariada detectou diferenças significativas entre os grupos nas doses de 60 e 180 Gy;
- 3) Apesar das diferenças terem sido detectadas, variáveis canônicas e análise de função discriminante não evidenciaram as diferenças entre os grupos em todas as dosagens consideradas, constatando que o efeito da radiação gama na geração M₁ nos caracteres avaliados não foi eficiente para caracterizar tais grupos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

- ADAMS, J.D. & NILAN, R.A. After effects of ionizing radiation in barley II. Modification by storage of X-irradiated seeds in different concentrations of oxygen. **Radiation Research**, San Diego, **8**: 111-22, 1958.
- AUERBACH, C. Chemical mutagenesis. **Biological Review and Proceedings the Cambridge Philosophical Society**, Cambridge **24**: 355-91, 1949.
- ALLARD, R.W. Melhoramento genético por mutação In: _____. **Principios de melhoramento genético das plantas**. São Paulo, Edgard Blücher, 1971. cap. 35, p. 356-63.
- BACQ, Z. M. & ALEXANDER, P. **Fundamentals of radiobiology**. 2. ed. New York, Pergamon Press, 1966. v.5, 562 p.
- BAHL & GUPTA, Chlorophyll mutations in mugbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, **63**: 23-6, 1982.
- BLOCK, R. D. Mutagenesis and crop improvement. In: CARLSON, P.S. **Biology of crop productivity**. New York, Academic Press, 1980. p. 383-409.
- BOROJEVIC, K.; GOTTSCHALK, W.; MICKE, A. Factors influencing the mutant spectrum and the quality of mutants; differences depending on the genotype. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Manual on mutation breeding**. 2 ed. Vienna, 1977. p. 146-7. (Technical Reports Series, 119).
- BRIGGS, R.W & CONSTANTIN, M.J. Radiation types and radiation sources. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Manual on mutation breeding**. 2 ed. Vienna, 1977. p. 7-20. (Technical Reports Series, 119).

- BRIGGS, R.W. & KONZAK, C. F. Objects and methods of treatment. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Manual on Mutation Breeding**. 2 ed. Vienna, 1977. p. 33-40. (Technical Reports Series, 119).
- CALDECOTT, R. S.; JOHNSON E. B.; NORTH, D. T.; KONZAK C.F. Modification of radiation-induced injury by post treatment with oxygen. **Proceedings Natural Academy Science**, Washington, **43**: 963-75, 1957.
- CALDECOTT, R. S. Effects of hydration on X-ray sensitivity in Hordeum. **Radiation Research**, San Diego, **3**: 316-30, 1955a.
- CALDECOTT, R.S. The effects of X-rays, 2 Mev electrons, thermal neutrons irradiation on seed of barley. **Annals of the New York Academy of Sciences**. New York, **59**: 514-33, 1955b.
- CALDECOTT, R. S. & NORTH, D. T. Factores modifying the radiosensitivity of seeds and the theoretical significance of the acute irradiation of successive generations. In: **Mutation and plant breeding**. Washington, National Academic Science Public, 1961. p. 365-404.
- CASARETT, A. P. Effects of radiation on the cell. In: **Radiation biology**, Englewood cliffs, Prentice Hall, 1968. cap. 5, p.91-115.
- CHANG, T. T. The origen, evolution, cultivation dissemination, and diversification of Asian and African rices. **Euphytica**, Amsterdam, **25**: 435-41, 1976.
- CHEN, W. B.; SATO Y. I.; NAKAMURA I.; HIROKAZU N. Indica-japonica differentiation in chinese rice landraces. **Euphytica**, Amsterdam, **74**(3): 195-201, 1994.
- CONGER, B. V. & CARABIA, J. V. Modification of the effectiveness of fission neutrons versus ^{60}Co gamma radiation in barley seeds by oxygen and seed water content. **Radiation Botany**, London, **12**: 411-20, 1972.

- CONGER, A. D. & RANDOLPH, M. L. Magnetic centers (free radicals) produced in cereals embryos by ionizing radiation. **Radiation Research**, San Diego 11: 54-66, 1959.
- CONGER, B. V. Response of inbred and hybrid maize seed to gamma radiation and fission neutrons and its relationship to nuclear volume, **Environmental and Experimental Botany**, London, 16: 165-170, 1976.
- CONGER, B. V.; NILAN, R.A.; KONZAK, C.F. & METTER, S. alii Influence of seed water content on oxygen effect in irradiated barley seeds. **Radiation Research**, San Diego, 6: 129-144, 1966.
- CONGER, B. V.; KONZAK, C. F.; NILAN R. A. Radiation sensitivity and modifying factors. In:INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Manual on mutation breeding**. 2 ed. Vienna, 1977. p. 40-50. (Technical Reports Series, 119).
- CURTIS, H. J.; DELIHAS, N.; CALDECOTT R.S.; KONZAK, C.F. Modification of radiation injury damage in dormant seeds by storage. **Radiation Research**, San Diego 8: 526-34, 1958.
- DALLY, A. M. & SECOND, G. Chloroplast DNA diversity in wild and cultivated species of rice (Genus *Oryza*, Section *Oryza*). Cladistic-mutation and genetic-distance analysis. **Theoretical Applied Genetic**, Berlin, 80: 209-222, 1990.
- DIXIT, P. & DUBEY, D.K. Mutagenic efficiency of gamma rays, NMU and their combinations in lentil (*lens culinaris Med*) var. **Indian Journal Genetics and Plant Breeding**, New Delhi, 46(3): 501-5, 1986.

- DONINI, B.; KAWAI, T.; MICKE, A. Spectrum of mutant characters utilised in developing improved cultivars. In: Selection in Mutation Breeding. Proceedings of a consultants meeting, FAO/IAEA, Vienna, june 21-25, 1982. International Atomic Energy Agency, Vienna, 1984. p. 7-31.
- EHRENBERG, L.; GUSTAFSSON, A; LUNDQVIST, U. : NYBOM, N. Irradiation effects, seed soaking and oxygen pressure in barley. **Heredytas**, Lund, 493-504, 1953.
- FUJII, T. Radiosensitivity in plants V. Experimentes with several cultivated and wild rices. **Japanese Journal Breeding**, Tokyo, 12: 131-6, 1962.
- GAUL, H. Plant injury and lethality. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Manual on mutation breeding**. 2 ed. Vienna, 1977. p. 87-90. (Technical Reports Series, 119).
- GLASZMANN, J.C. Isozymes and classification of Asian rice varieties. **Theoretical Applied Genetic**, Berlin, 74: 21-30, 1987.
- GRAY, The energy transfer from ionizing particles to an of aqueous medium and its bearing on the interpretation of radiochemical and radiobiological change. **Journal Cellular Comparative Physiology**, Philadelphia, 39(1): 57-74, 1952.
- GUDKOV, J.N. & GRODZINSKY, D.M. Cell radiosensitivity variation in synchronously dividing root meristems of *Pisum sativum* L. and *Zea mays* L. during the mitotic cycle. **International Journal Radiation Biological**, New York, 41(4): 401-9, 1982
- HAYDEW, B. & SMITH, L. The relation of atmosphere to biological effects of X-rays, **Genetics**, New York, 34: 26-43, 1949.

- IQBAL, J. & ZAHUR, M.S. Effects of acute gamma irradiation and developmental stages on growth and yield of rice plants. **Radiation Botany**, London, **15**: 231-40, 1975.
- JOHNSON, E. L. The influence of X-radiation in *Atriplex hortensis* L. **New Phytologist**, London, **32**: 297-307, 1933.
- KHUSH, G. S. Selecting rice for simply inherited resistance. In: SYMPOSIUM ON PLANT BREEDING IN THE 1990S, Raleigh, 1991. **Proceedings**, edited by H.T. Staalker and J.P. Murphy. Wallingford, CAB, 1992. cap.13, p.303-22.
- KAMRA, O. P.; KAMRA, S.K.; NILAN, R. A.; KONZAK C. F. Radiation response of soaked barley seeds. Substances lost by leaching. **Hereditas**, Lund, **46**:152-70, 1960.
- KONZAK, C.F. Genetics effects of radiation on higher plants. **Quarterly Review Biology**, Chicago, **32**: 27-45, 1957.
- KOWYAMA, Y.; KAWASE, T.; YAMAGATA, H. Cell-cycle dependency of radiosensitivity and mutagenesis in fertilized egg cells of rice, *Oryza sativa* (L.) 2. X-ray sensitivity and mutation rate during a cell cycle. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, **68**: 297-303, 1984.
- LEA, D. E. **Actions of radiations on living cells**. 2^a ed. London, Cambridge University Press, 1956. 416p.
- LI, T. G. & WANG, Q. G. Cold tolerance of Yunnan rices at different elevations. **International Rice Research Newsletter**, Manila, **11**: 13-14, 1986.
- MABUCHI, T. & MATSUMURA, S. Dose rate dependence of mutation rates from gamma irradiated pollen grains in maize. **Japanese Journal Genetics**, Tokyo **39**: 131-5, 1964.

- MACKEY, J. Radiogenetics in Triticum. **Genetica Agrária**, Rome, 12:(3/4), 201-30, 1960.
- MAGEE, J. L. & CHATTERJEE, A. A spur unfolding model for the radiolysis of water. **Radiation Physiology Chemistry**, 15:125-132, 1980
- MATSUMURA, S. Relation between radiation effects and dose rate of X-and gamma rays in cereals. **Japanese Journal Genetics**, Tokyo, 40: 1-11, 1964.
- MIKAELSEN, K., KISS I. ,; OSONE K., Some effects of fast neutrons and gamma radiation on rice. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Neutron irradiation of seeds II**. Vienna, 1968. p. 49-54.
- MORINAGA, T. & KURIYAMA H. Intermediate Type of rice in the subcontinent of India and Java. **Japanese Journal Breeding**, 7: 253-9, 1958.
- MORISHIMA, H. Differentiation of pathogenic races of (*Piricularia oryzae*) into two groups Indica and Japonica. **SABRAO Newsletter**, 1: 81-94, 1969.
- MORISHIMA, H. & OKA, H. I. Phylogenetic differentiation of cultivated rice. **Japanese Journal Breeding**, Tokyo, 31: 402-13, 1981.
- MUJEEB, K. A. **Gamma radiation effects on Phaseolus Vulgaris L. and seed radiosensitivity determinations for other species**. Kansas, 1970 130 p. (Ph. D.- Kansas University State).
- MUKHERGEE, K.K. & BASU, R.K. Radioresistance of experimentally produces hybrid of indian spinach **Radiation Botany**, 15: 411-5, 1975.
- MÜLLER, H. J. Artificial transmutation of the gene. **Science**, Washington, 66: 84-7, 1927.

- NAKAGAHARA, M.; AKIHAMA, T.; HAYASHI, K. Genetic variation and geographic cline of esterase isoenzymes in native rice varieties. *Japanese Journal Genetics*, Tokyo, 50: 373-382, 1975.
- NAKAGAHARA, M. Genic analysis for esterase isoenzymes in rice cultivars. *Japanese Journal Breeding*, Tokyo, 27: 141-8, 1977.
- NATAJARAN, A.T. & MARIC, M. M. The time-intensity factor in dry seed irradiation. *Radiation Botany*, 1: 1-9, 1961.
- NILAN, R. A.; KONZAK, C. E.; LEGAUT, R.R.; HARLE, J.R. The oxygen effect in barley seeds. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Effects of ionizing radiation on seeds*. Vienna, 1961 p. 139-52.
- NILAN, R. A.; KONZAK, C.F.; LEGAULT, R.R. & HARLE, J.R. The oxygen effect in barley seeds. In: *Effects of ionizing radiations on seeds*. Proceedings of a Symposia , 1961
- NILAN, R. A. Relation of carbon dioxide, oxygen and low temperature to injury and cytogenetic effects os X-rays in barley. *Genetics*, New York, 39: 943-954, 1954.
- NOTANI, N.K. & GAUL, B.K. Paradoxical modification in radiosensitivity In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. *Biological effects of ionizing radiations on the molecular level*. Vienna, 1962. p. 444-53.
- NYBOM, N.; GUSTAFSSON, A.; GRANHALL, I.; EHRENBORG, L. The genetics effects of chronic gamma irradiation in barley. *Hereditas*, Lund, 42:447-57, 1956.
- OLEJNICKZAK S. & PATYNA H., Mutagenic effects of N-methyl-N-nitrosourea (MNUA) and sodium azide (SA) in maize line S-75 (*Zea mays*). *Genética Polonica*, Poznan, 22(3): 289-94, 1981.

- OKA, H. I. Intervarietal variation and classification of cultivated rice. **Indian Journal of Genetics & Plant Breeding**, New Delhi, 18: 79-89, 1958.
- OKA, H. I. Indica-japonica differentiation of rice cultivars. In: _____. Amsterdam, Elsevier, **Scientific Societies Press**, 1988. cap. 7 p.141-170.
- PATT, H. M. Protective mechanisms in ionizing radiation injury. **Physiology Reviews**, Baltimore, 33: 35-76, 1953.
- PENTAL, D. & BARNES, S. R. Interrelationship of cultivated rice *Oryza sativa* and *Oryza glaberrima* with the wild *Oryza perennis* complex. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, 70: 185-91, 1985.
- RAO, C. **Linear Statistical Inference and Its Applications**, 2^a ed. New York, John Wiley, 1973. 625 p.
- RAMARATHNAM N.; OSAWA T.; MITSUO N.; KAWAKISHI S. Studies on changes in fatty acid composition and content of endogenous antioxidants during γ irradiation of rice seeds. **Journal American Oil Chemistry Society**, London, 66: 105-8, 1989.
- RUTGER, J.N. Impact of mutation breeding in rice - a review. **Mutation Breeding Review**, Vienna, (8): 1-23, 1992. Apud **Plant Breeding Abstracts**, Wallingford, 63(7): 932, July 1993 (Resumo).
- SARIC, M.R. The dependence of irradiation effects in seed on the biological properties of seed. **Isotopes in Agriculture**, 27: 233-49, 1958
- SARIC, M. The effects of irradiation in relation to the biological traits of seed irradiated. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Effects of ionizing radiation on seeds**. Vienna, International Atomic Energy Agency, 1961 p. 103-15.

- SCARASCIA-MUGNOZZA, G. T. & MONTI, L. M. Effects of recurrent mutagenic treatment em *durum* wheat. **Mutation Research**, San Diego, 3: 298-304, 1966.
- SIDDIQ, E. A. & SWAMINATHAN, M. S. Induced mutations in relation to the breeding and phylogenetic differentiation of *Oryza sativa*. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Rice breeding with induced mutations**. Vienna, 1968. p. 25-33. (Technical Reports Series, 86).
- SIGNORINI, J. L. & SIGNORINI, S. L. **Atividade física e radicais livres**. São Paulo, EDUSP, 1993, 160p.
- SMITH, L. Hereditary susceptibility to X-ray injury in *Triticum Monococcum*. **American Journal Botany**, London, 24: 189-91, 1942.
- SMITH, H.H. Radiation in the production of useful mutation. **Botanical Review**, New York, 24:(1): 1-24, 1958.
- SPARROW, A. H. **Types of ionizing radiation and their cytogenetic effects**. Mutation and Plant Breeding, NAS-NCR-891, p. 55-119, 1961
- SPARROW, A. H.; CUANY, R. L.; MIKSCH, J. P.; SCHAIRER, L. A. Some factors affecting the responses of plants to acute and chronic radiation exposures In: **Effects of ionizing radiations on seeds**. Vienna , International Atomic Energy Agency, 1961. p.289-320.
- SPARROW, A. H.; SCHAIRER, L. A.; SPARROW, R. C. Relationship between nuclear volumes, chromosome numbers and relative radiosensitivities, **Science**, Washington 141: 163-6, 1963.
- STADLER, L.J. Genetics effects of X-rays in maize. **Proceedings of National Academic of Science**, Washington, 14: 69-75, 1928a.

- STADLER, L. J. Mutation in barley induced by X-rays and radium. *Science*, Washington, 68: 187-7, 1928b.
- STADLER, L.J. Chromosome number and mutation rate in Avena and Triticum, *Proceedings of National Academic of Science*, Washington, 15:876-81, 1929.
- SUNDARU, M.; BABA, I.; TANABE, T.; TAMAI, F.; MOTODA, Y. Varietal differences of indonesian rice plants in their susceptibility to 2,4-D injury and interrelationships with ethylene. *Japanese Journal of Crop Science*, Tokyo, 52:(3)23-30, 1983.
- TAKAHASHI, N. Differentiation of ecotypes in Oryza sativa L. In TSUNODA S., TAKAHASHI N. *Biology of rice*. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 1984 p. 31-67.
- TERAO, H. & MIZUSHIMA, U. Some considerations on the classification of O. sativa L.. *Japanese Journal Botany*, Tokyo, 10: 242-58, 1939.
- TSUNEWAKI, K. & HEYNE, E. G. Radiobiological study of wheat monosomics. I. and II., *Genetics*, New York, 44: 1959.
- UNDERBRINK, A.G.; SPARROW, A.H.; POND, D.V. Chromosomes and cellular radiosensitivity II. Use of interrelationships among chromosome volume, nucleotide content and Do of 120 diverse organisms in predicting radiosensitivity, *Radiation Botany*, London, 8: 215-28, 1968.
- YAMAGUCHI, H. Induction of mutations by repeated irradiation of successive generations in barley and rice. *Japanese Journal of Breeding*, Tokyo, 12: 141-7, 1962.
- YAMAGUCHI, H. & ANDO A. Radio-sensitivity of gammairradiated autotetraploid in rice. *Japanese Journal of Breeding*, Tokyo, 9:(2/3), 169-72, 1962.

WILKS, S. S. Certain generalizations in the analysis of variance. **Biometrika**, 24: 471-4, 1932.

ZHAO X.; WU, T.; XIE, Y.; WU, R. Genome specific repetitive sequences in the genus *Oryza*. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, 78: 201-209, 1989.