INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGETICAS E NUCLEARES

Autarquia da Universidade de São Paulo

**Influência de diferentes doses de radiação gama (Cobalto60) em sementes de soja
Glycine max (L.) visando aumento de produtividade.**

JOSÉ GILMAR FRANCO

Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Doutor em Ciências na Área de
Tecnologia Nuclear – Aplicações.

Orientadora:
Profa. Dra. Anna Lúcia Casanas Haasis
Villavicencio.

São Paulo - SP

2018

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGETICAS E NUCLEARES

Autarquia da Universidade de São Paulo

**Influência de diferentes doses de radiação gama (Cobalto60) em sementes de soja
Glycine max (L.) visando aumento de produtividade.**

JOSÉ GILMAR FRANCO

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Doutor em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações.

Orientadora: Profa. Dra. Anna Lúcia Casanas Haasis Villavicencio.

São Paulo - SP

2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, para fins de estudo e pesquisa desde que seja citada a fonte.

FRANCO, José G.; Influência de diferentes doses de radiação gama (Cobalto60) em sementes de soja *Glycine max* (L.) visando aumento de produtividade. 2018. 66p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN/CNEN/SP. São Paulo. Disponível em: <http://www.teses.usp.br>.

Ficha catalográfica

Franco, José Gilmar

Influência de diferentes doses de radiação gama (Cobalto60) em sementes de soja *Glycine max* (L.) visando aumento de produtividade. José Gilmar Franco. Orientadora: Anna Lúcia Casanas Haasis Villavicencio.

São Paulo, 2018.

77p.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Tecnologia Nuclear.

Área de concentração (Aplicações) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Universidade de São Paulo.

1. Irradiação. 2. Sementes. 3. Soja. 4. Produtividade.

Autor: José Gilmar Franco

Título: Influência de diferentes doses de radiação gama (Cobalto60) em sementes de soja *Glycine max* (L.) visando aumento de produtividade.

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Data: 18/maio/2018.

Banca Examinadora

Profª. Dra.: Anna Lucia Casañas Haasis Villavicencio

Instituição: IPEN/USP _____ Julgamento: APROVADO

Prof. Dr.: Valter Arthur

Instituição: CENA/USP _____ Julgamento: APROVADO

Prof. Dr.: Antonio Sampaio Baptista

Instituição: ESALQ/USP _____ Julgamento: APROVADO

Profª. Dra.: Marcia Nalesso Costa Harder

Instituição: FATEC/Piracicaba-SP _____ Julgamento: APROVADO

Prof. Dr.: Regildo Marcio Gonçalves da Silva

Instituição: FFOA/UNESP _____ Julgamento: APROVADO

DEDICATÓRIA

**Ofereço aos meus pais *Paulo Franco (em memória)*
e Elza Maria, pelos ensinamentos transmitidos
durante a trajetória da minha vida.**

A minha esposa Salumita, pelo carinho, amor e companheirismo.

E dedico

Aos meus filhos Caio, Luísa e Maria por quem a vida continua.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por iluminar sempre meu caminho, pelos pensamentos, e por me dar saúde, paciência e sabedoria para o desenvolvimento deste trabalho.

A Profa. Dra. Anna Lucia C. H. Villavicencio, minha orientadora, pela oportunidade em orientar esse trabalho, agradeço pelas dicas, sugestões e críticas.

Ao Prof. Dr. Valter Arthur, pela coorientação, apoio, incentivo, paciência, força e atenção dedicada durante a execução deste trabalho.

Agradeço ao Professor Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva e seu aluno Rodrigo Yukio Sugimoto, pela parceria da Unesp de Assis no desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu filho, Dr. Caio Haddad Franco, pelo auxílio, sugestões as orientações tecnológicas.

Aos irmãos Carlos e Sergio Marcusso e ao Sr. Adão A. dos Santos, pela colaboração na implantação e condução dos trabalhos no campo.

Aos funcionários da Apta de Assis, pelo auxílio na extração e classificação da matéria prima deste trabalho.

A Coopermota de Palmital e ao produtor de soja orgânica, agrônomo Gilberto Dias Paião, pela oferta das sementes de soja;

Aos professores do Curso de Pós-Graduação do IPEN pelas informações e conhecimentos transmitidos que contribuíram para a execução deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação de Ciências e Tecnologia Nuclear Aplicações do IPEN pela oportunidade concedida.

A todos os funcionários do Programa de Pós-Graduação do IPEN.

Ao CNEN, pela bolsa concedida durante o desenvolvimento desta pesquisa.

RESUMO

Franco, José G. Influência de diferentes doses de radiação gama (Cobalto60) em sementes de soja *Glycine max* (L.) visando aumento de produtividade. 2018. 66p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN/CNEN/SP. São Paulo.

A cultura da soja possui enorme importância econômica mundial e particularmente para o Brasil. Existem várias pesquisas voltadas para o aumento de produtividade e qualidade desta cultura, como melhoramento e alterações genéticas de cultivares. Vários trabalhos vêm demonstrando que a irradiação ionizante pode aumentar a produção de plantas, surgindo assim como um método alternativo para aumentar a produção de culturas de importância econômica. O objetivo deste estudo foi testar várias doses de irradiação ionizante, variando desde 10 Gy até 150 Gy, visando observar qual delas poderia desenvolver características benéficas, como aumento de produtividade e da qualidade do óleo. O trabalho foi desenvolvido durante três anos, sendo parte dele no campo e outra parte em casa de vegetação. Também foi avaliado o potencial genotóxico e a qualidade do óleo dos grãos produzido por indivíduos provenientes destas sementes irradiadas. No campo observou-se vários parâmetros com relação a planta, sendo que nenhum destes parâmetros apresentou diferenças significativas conforme o teste estatístico aplicado. Já com relação ao aumento de produtividade podemos concluir que houve diferença significativa entre os valores de produtividade da testemunha e das parcelas irradiadas com dose de 25 Gy, com aumento de 97,97%. Em ambiente protegido foram avaliados os efeitos de estimulação da radiação sobre a germinação e produção, sendo que os resultados indicaram que os tratamentos com doses de 12,5; 25; 50 e 75 Gy apresentaram diferença estatística significativa quando comparado a outros tratamentos, mas entre si os valores foram semelhantes. Na determinação do potencial genotóxico, avaliado pelo método do teste com *Allium cepa*, as amostras de óleo de soja provenientes de sementes irradiadas não apresentaram atividade genotóxica e citotóxica. Também pode-se concluir que o óleo obtido de sementes de indivíduos provenientes de sementes irradiadas, não apresentam diferença em comparação ao óleo obtido de sementes de indivíduos não irradiadas, onde foi possível comparar os valores dos índices referentes a acidez, saponificação, refração e índice de iodo, além da comprovação também de que estas doses positivas geram produtos limpos e livres de características depreciativas.

Palavras chave: irradiação, sementes, soja, produtividade.

ABSTRACT

Franco, José G. Influence of different doses of gamma radiation (Cobalt60) in soybean *Glycine max* (L.) aiming the increase in the productivity. 2018. 66p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN/CNEN/SP. São Paulo.

Soybean cultivation is of great economic importance worldwide and particularly for Brazil. There are several researches aimed at increasing productivity and quality of this crop, such as breeding and genetic changes of cultivars. Several studies have shown that ionizing irradiation can increase plant production, thus emerging as an alternative method to increase the production of economically important crops. The objective of this study was to test several doses of ionizing radiation, varying from 10 Gy to 150 Gy, in order to observe which of them could develop beneficial characteristics, such as increased in productivity and oil quality. The work was developed during three years, being part of them in the field and another part in greenhouse. The genotoxic potential and the oil quality of the grains produced by individuals from these irradiated seeds were also evaluated. In the field several parameters related to the plant development were observed, and none of these parameters presented significant differences according to the statistical tests applied. Regarding the increase in productivity, we can conclude that there was a significant difference between the values of yield of the control and the irradiated seeds with dose of 25 Gy, with an increase of 97.97%. In the protected environment, the effects of radiation stimulation on germination and production were evaluated, and the results indicated that the treatments with doses of 12.5; 25; 50 and 75 Gy presented a statistically significant difference when compared to other treatments, but among them the values were similar. In the determination of the genotoxic potential, evaluated by the *A. cepa* test, soybean oil samples from irradiated seeds showed no genotoxic nor cytotoxic activity. It is also possible to conclude that the oil obtained from irradiated seeds individuals did not present a difference compared to oil obtained from seeds of non-irradiated individuals, where it was possible to compare the values of the indexes referring to acidity, saponification, refraction and iodine rate, in addition to the proof that these positive doses generated clean products free of genotoxic characteristics.

Key words: irradiation, seeds, soybean, productivity.

SUMÁRIO

	páginas
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. ASPECTO DE ORIGINALIDADE.....	16
3. OBJETIVO.....	17
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
6. ARGUMENTAÇÃO SOBRE OS RESULTADOS.....	32
7. CONCLUSÕES.....	51
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
9. ANEXOS.....	64

LISTA DE TABELAS

pagina

Tabela 1. Esquema de distribuição das parcelas com delineamento em campo experimental no primeiro ano (safra 2013/2014).	26
Tabela 2. Esquema de distribuição das parcelas com delineamento em campo experimental no segundo ano (safra 2014/2015).	26
Tabela 3. Esquema de distribuição das parcelas com delineamento em campo experimental no terceiro ano (safra 2015/2016).....	27
Tabela 4. Valores médios e desvio padrão da altura das plantas em centímetro provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2013 a 2014).	33
Tabela 5. Valores médios e desvio padrão da altura das plantas em centímetro provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2014 a 2105).	33
Tabela 6. Valores médios e desvio padrão da altura das plantas em centímetro provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2015 a 2016).....	33
Tabela 7. Valores médios e desvio padrão de nós vegetativos das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2013 a 2014).....	34
Tabela 8. Valores médios e desvio padrão de nós vegetativos das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2014 a 2015).....	35

Tabela 9. Valores médios e desvio padrão de nós vegetativos das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2015 a 2016).....	35
Tabela 10. Valores médios e desvio padrão de ramificações por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2013 a 2014).....	36
Tabela 11. Valores médios e desvio padrão de ramificações por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2014 a 2105).....	36
Tabela 12. Valores médios e desvio padrão de ramificações por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2015 a 2106).....	37
Tabela 13. Valores médios e desvio padrão do numero de vagens por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2013 a 2014).....	38
Tabela 14. Valores médios e desvio padrão do numero de vagens por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2014 a 2015).....	38
Tabela 15. Valores médios e desvio padrão do numero de vagens por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2015 a 2016).....	38
Tabela 16. Valores médios e desvio padrão do numero de sementes por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2013 a 2014).....	39

Tabela 17. Valores médios e desvio padrão do numero de sementes por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2014 a 2015).....	40
Tabela 18. Valores médios e desvio padrão do numero de sementes por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2015 a 2016).....	40
Tabela 19. Valores médios e desvio padrão da produtividade em gramas das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2013 a 2014).....	41
Tabela 20. Valores médios e desvio padrão da produtividade em gramas das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2014 a 2015).....	42
Tabela 21. Valores médios e desvio padrão da produtividade em gramas das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2015 a 2016).....	42
Tabela 22. Valores totais medias e desvio padrão da produtividade em gramas nas parcelas das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2014 a 2015).....	43
Tabela 23. Valores totais medias e desvio padrão da produtividade em gramas nas parcelas das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (safra 2015 a 2016).....	43
Tabela 24. Número médio de sementes plantadas, porcentagem de germinação e numero de sementes colhidas a partir de sementes irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto-60. (safra 2014/2015).....	45

Tabela 25. Número médio de sementes plantadas, porcentagem de germinação e numero de sementes colhidas a partir de sementes irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto-60. (safra 2015/2016)4.....	45
Tabela 26. Número médio de sementes plantadas, porcentagem de germinação e numero de sementes colhidas a partir de sementes irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto-60. (safra 2016/2017).....	45
Tabela 27. Resultados das análises físico-químicas do óleo de soja obtidos de sementes de <i>G. max</i> (soja) produzidas por indivíduos provenientes de sementes irradiadas.....	46
Tabela 28. Índice mitótico de células meristemáticas de raiz de <i>Allium cepa</i> tratadas com os extratos Tween, Óleo 0, Óleo 25Gy, Óleo 100Gy, Controle Negativo (CN) Água destilada e Controle Positivo Metilmetanosulfonato (MMS).....	47
Tabela 29. Índice mitótico, Índice de morte, Índice de alterações cromossômicas e Índice de mutagenicidade de células meristemáticas de raiz de <i>Allium cepa</i> tratadas com os extratos Tween, Óleo 0, Óleo 25Gy, Óleo 100Gy, Controle Negativo (CN) Água destilada e Controle Positivo Metilmetanosulfonato (MMS).....	48
Tabela 30. Aberrações cromossômicas (AC), Micronúcleos (MN) e Perdas Cromossômicas de células meristemáticas de raiz de <i>Allium cepa</i> tratadas com os extratos Tween, Óleo 0, Óleo 25Gy, Óleo 100Gy, Controle Negativo (CN) Água destilada e Controle Positivo Metilmetanosulfonato (MMS).....	49

LISTA DE FIGURAS

	Pagina
Figura 1. Planta de soja com vagens.....	13
Figura 2. Fontes: de Cobalto-60, tipo Gammabeam-650 e Gammacell-220, instaladas no CENA/USP.....	23
Figura 3. Sementes de soja irradiadas.....	24
Figura 4. Emergência de soja semeada no campo.....	25
Figura 5. Estádios fenológicos da soja.....	25
Figura 6. Soja semeada em casa de vegetação no CENA.....	27
Figura 7. Trilhadora da APTA de Assis, usada na trilhagem do experimento.....	29
Figura 8. Moinhos de grãos do Laboratório de Fitoterápicos, Departamento de Biotecnologia, Faculdade de Ciências e Letras de Assis.....	30
Figura 9. Extrator de gordura do Laboratório Fitoterápicos, Departamento de Biotecnologia, Faculdade de Ciências e Letras de Assis.....	30
Figura 10. Gráfico com valores médios das alturas das plantas.....	34
Figura 11. Gráfico com valores médios de nós vegetativos.....	35
Figura 12. Gráfico com valores médios de ramificações por plantas.....	37
Figura 13. Gráfico com valores médios de vagens por plantas.....	39
Figura 14. Gráfico com valores médios de sementes por plantas.....	40
Figura 15. Gráfico com valores médio da produtividade em gramas.....	42
Figura 16. Gráfico com valores totais da produtividade em gramas nas parcelas.....	44

1 INTRODUÇÃO

A soja é um dos produtos agrícolas mais antigos que o homem conhece. Sua planta (Figura1), pertencente à classe *Dicotyledoneae*, subclasse *Archichlamydae*, ordem *Rosales*, subordem *Leguminosinae*, família *Leguminosae*, subfamília *Papilionaceae*, tribo *Phaseoleae*, gênero *Glycine* L., subgênero *Glycine* (Moench) e à espécie *Glycine max* (L.) Merrill (CANDEIA, 2008) (Figura, 1).

Fonte: Candeia (2008)

Figura 1. Planta de soja com vagens

O cultivo da soja originou-se na região leste da China, o qual passou por evolução entre duas espécies de soja selvagem, que foram domesticadas e melhoradas por cientistas da antiga China. Sua importância na dieta alimentar da antiga civilização chinesa era tal, que a soja, juntamente com o trigo, o arroz, o centeio e o milheto, era considerada um grão sagrado, com direito a cerimônias ritualísticas na época da semeadura e da colheita (CANDEIA, 2008).

A soja é a que mais se destaca entre as leguminosas, dispõe de uma grande quantidade de óleo. O óleo de soja representa uma matéria-prima abundante e prontamente acessível. Atualmente a maior parte do biodiesel produzido no mundo deriva do óleo de soja (FERRARI et al., 2005).

Nos últimos anos, com a valorização do preço internacional e com a demanda crescente por biodiesel, está havendo maior interesse no aumento do teor de óleo das cultivares de soja. Nos Estados Unidos, por exemplo, algumas indústrias compradoras de soja

já estão oferecendo prêmios aos agricultores que produzem grãos com maiores teores de óleo ou proteína. No Brasil, o interesse crescente pelo uso na produção de biodiesel, inclusive incentivado por políticas públicas governamentais, está estimulando o planejamento de programas de melhoramento de soja direcionados para desenvolvimento de cultivares com alto teor de óleo nos grãos. No mundo todo, o biodiesel vem sendo apresentado como um combustível promissor de alto potencial devido, em primeiro lugar, a sua enorme contribuição ao meio ambiente, e em segundo lugar, como fonte estratégica de energia renovável, sendo a soja sua principal matéria prima (FERRARI et al., 2005).

No mercado nacional a soja ocupa lugar de destaque devido as suas características, que contribui de forma significativa para a produção de grãos destinados principalmente para exportação, além da obtenção de óleo, farinha entre outros derivados. Sabe-se que para uma boa produtividade é necessário um bom planejamento, já que é uma planta cultivada em grande escala e tem boa adaptabilidade a diferentes solos e condições climáticas. Devido a suas inúmeras variedades, a colocam entre as principais leguminosas do mundo, sendo entre elas a mais cultivada (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 2013).

Em consideração às características das irradiações ionizantes, inúmeras áreas são beneficiadas por sua aplicação, desde a Medicina, a Indústria (principalmente a farmacêutica), a Agricultura e até a Indústria Bélica. Entre as suas aplicações destacam-se: traçadores radioativos; radioesterilização de equipamentos e instrumentos médicos; radiodiagnóstico (tomografia e a mamografia); radiofármacos; radioterapia entre outros (CARDOSO, 1999). Entre estas áreas citadas, a agricultura tem se beneficiado com o emprego de técnicas que se utiliza a radiação, onde a irradiação de alimentos reduz as perdas naturais causadas por processos fisiológicos, além de eliminar ou reduzir microrganismos, parasitas e pragas, sem causar qualquer prejuízo ao alimento. Além da melhora do tempo de prateleira dos alimentos, essa técnica permite também a obtenção de mutantes com características de maior produtividade, precocidade, menor porte, maior resistência a doenças, pragas e acamamento. Estes mutantes são utilizados na obtenção de novas variedades de espécies de interesse agrônômico (KARUNAKARAN, 1971).

Dentro deste contexto, a radiação torna-se uma ferramenta importante de indução de mutações, técnica que busca aumentar a variabilidade genética no melhoramento de plantas. Um dos métodos utilizados é a irradiação de sementes de plantas para agregação de valores

agronômicos como resistência a algumas doenças e tolerância a metais tóxicos no solo, como o alumínio (CAMARGO et al., 2005). Diversos trabalhos têm sido realizados com o intuito de estudar o potencial da irradiação controlada de sementes como uma ferramenta eficaz de melhoramento genético em larga escala (PREISS e KLEIN, 1958; MIRANDA et al., 2009).

Apesar da técnica de radiação na agricultura, tanto para a irradiação de alimentos como ferramenta para o melhoramento genético, serem seguras do ponto de vista físico e biológico faz-se necessárias outras análises para corroborar com o emprego desta técnica. Entre estas análises está o Teste do *Allium cepa* L. que permite a avaliação fitotóxica, citotóxica e genotóxica de substâncias químicas, resíduos e dejetos industriais, água e sedimentos de rios e efluentes, assim como monitorar substâncias presentes no ambiente oriundas de contaminantes e radiações (FISKEJÖ, 1981; RANK et al., 1993; CHAUHAN et al., 1998; CHAUHAN et al., 1999; BAGATINI et al., 2007; LEME e MARIN-MORALES, 2009).

No que diz respeito à irradiação ionizante, ela pode ser considerada um vetor de elevado potencial mutagênico, já que pode atuar diretamente nas moléculas orgânicas modificando a estrutura do DNA. Exemplo do emprego do Teste do *Allium cepa* L. foi a avaliação genotóxica sobre solos de regiões habitadas e contaminadas por Cs¹³⁷ após o acidente de Chernobyl na Ucrânia, resultando em uma relação dose-dependente entre o aumento do número de aberrações cromossômicas e a queda da taxa de mitose na medida em que o solo estava mais contaminado (KOVALCHUK et al., 1998). Outro exemplo da aplicação do teste foi análise do impacto do elevado nível de radiação natural no solo da região habitada de Ramsar no Irã (SAGHIRZADEH et al., 2008). Em relação aos alimentos irradiados o teste foi realizado para avaliar o potencial genotóxico do *Allium sativum* L. (alho) irradiado com Cobalto 60, o estudo demonstrou que, apesar do incentivo à irradiação dos alimentos, estes podem apresentar elevado potencial genotóxico quando submetido a doses específicas, o que pode levar a citotoxicidade e genotoxicidade quando ingeridos por outros organismos (CAMPO et al., 2008).

2 ASPECTO DE ORIGINALIDADE

A soja *Glycine max* (L.) é uma cultura de grande importância agrônômica. É a espécie oleaginosa mais cultivada no mundo. O Brasil, em 2018 se tornou o segundo maior produtor e exportador mundial, produzindo aproximadamente 32,3% da produção mundial.

A importância econômica dessa cultura esta pautada na possibilidade de extrair do grão um óleo de qualidade desejável tanto para alimentação humana quanto para a produção de biodiesel e do farelo, o qual apresenta elevado teor proteico. Sendo assim o elevado valor sócio econômico da soja é atribuído principalmente a combinação favorável de alto teor de proteína (40% em média) e de óleo (20% em média), além de apresentar um bom nível de produtividade de grãos (3.000 kg.ha⁻¹, em média) (VELLO, 1991).

Melhorar a produtividade agrícola é a melhor de todas as intervenções para reduzir a pobreza. Melhorar as outras atividades econômicas também contribui, mas nada é tão eficiente quanto investir na agricultura.

Diante da importância do estudo do potencial genotóxico da irradiação como ferramenta agrícola e a aplicabilidade do teste do *A. cepa* para detecção de eventos genotóxicos faz-se necessário estudos e investigações que colaborem para elucidar os riscos biológicos e ambientais na utilização desta técnica. Portanto esse trabalho é inédito no aspecto de buscar obter aumento de produtividade através do uso da radiação gama, sem alterar as características fisiológicas e genéticas da soja.

3. OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo determinar a dose ideal de radiação gama do Cobalto-60, para estimular o aumento da produtividade de *Glycine Max* (L.) e avaliar o potencial genotóxico e a qualidade do óleo de sementes de *G. max* (soja) produzidas por indivíduos provenientes de sementes irradiadas.

4. REVISÃO DE LITERATURA

Atualmente existem opções de métodos para tentar se alcançar maior produção de óleo em soja. A seleção natural dos grãos mais produtivos leva a produção de variedades específicas para a produção de óleo, porém é um método demorado. (AUTOR)

Uma alternativa poderia estar na manipulação genética, no intuito de se obter variedades específicas, porém requer-se tempo e um alto custo. (AUTOR)

Assim sendo, entre as aplicações das radiações ionizantes está a esterilização de materiais, o melhoramento genético, a preservação de alimentos, o retardo no amadurecimento de frutas, a prevenção da brotação, e a esterilização de insetos. Mas o fato de uma célula sensível à radiação ser atingida não significa, necessariamente, a morte desta. Isto ocorre porque o organismo possui vários mecanismos de controle e recuperação aos danos. Os mecanismos de controle e recuperação variam inclusive de acordo com o tipo e a intensidade da radiação. (AUTOR)

Vários trabalhos têm demonstrado que a irradiação ionizante pode aumentar a produção de plantas, surgindo assim como um método alternativo para aumentar a produção de culturas de importância econômica. Apesar da teoria hormesis ter se confirmado em experimentos e observações realizadas ao longo dos anos, são relativamente poucos os pesquisadores que se dedicam ao estudo deste fenômeno. A dificuldade no estabelecimento de curvas de dose resposta, a falta de um mecanismo de ação específico para explicar as mudanças envolvidas, assim como a dificuldade na reprodutibilidade, são provavelmente alguns dos fatores responsáveis pela negligência com que o fenômeno hormesis tem sido tratado. (AUTOR)

Dentro do uso das tecnologias de irradiação, a radiohormese tem-se destacado por apresentar efeitos benéficos no setor agrícola, seja por quebra da dormência natural das sementes, seja pela aceleração do processo de crescimento e desenvolvimento, ou mesmo pelo aumento da produção (CDTN, 1999).

Em 1888 o farmacologista alemão Hugo Paul Friedrich Schulz foi o primeiro a descrever um fenômeno no qual substâncias tóxicas têm efeitos opostos, quando em baixas doses e em altas doses. Em seu experimento utilizando baixas doses de toxinas, houve estímulo ao crescimento de leveduras e, em altas doses, houve inibição ao crescimento. Juntamente com Rudolf Arndt elaborou a lei de Arndt-Schultz a qual preconiza que produtos pouco irritantes estimulam a atividade e os altamente irritantes inibem qualquer atividade. Muito antes ainda, Hipócrates preconizava a utilização de doses diminutas de substâncias tóxicas para tratar doenças.

Este conceito é coincidente com o fenômeno conhecido por hormese ou hormesis. O termo foi primeiramente utilizado em 1942 para descrever o estímulo ao crescimento de um fungo, a baixas concentrações de um antibiótico natural que, a altas concentrações, suprimia o desenvolvimento deste mesmo fungo (OKAZAKI, 1995).

Hormesis é um fenômeno de dose resposta que é caracterizado por estímulos com baixas doses e inibição a altas doses (CALABRESE e BALDWIN, 1997, 2001, 2003a, 2003b; CALABRESE 2008).

Este fenômeno, não é apenas observado pelo uso de agentes químicos, mas de qualquer agente que possa causar estresse, incluindo-se as radiações ionizantes.

Segundo LUCKEY (1980), *hormesis* é a estimulação através de baixas doses de qualquer agente potencialmente danoso. *Radiações horméticas* são, portanto, radiações em baixas doses que promovem estímulos a determinado organismo. Radiações ionizantes têm por sua vez a possibilidade de atingir o organismo por completo, estimulando todas as células quase que instantaneamente, o que não ocorre com o uso de substâncias químicas.

Com o avanço das pesquisas no campo da irradiação, no final do século XIX observou-se alguns benefícios que doses baixas de radiação podem causar a organismos

vivos. Efeitos biopositivos como a aceleração do crescimento em *Oscillatoria* (alga verde-azulada) foram descritos já em 1898, por Atkinson (citado por WIENDL, 2010). No mesmo ano, observou-se aceleração na germinação de sementes irradiadas com raios-X. A ocorrência de efeitos biopositivos de radiações ionizantes em baixas doses e de radiações UV têm sido observados em plantas e células isoladas, desde o início do século passado com os primeiros estudos de JENSEN em 1907. Ele também observou em plantas que havia estímulo ao metabolismo quando da utilização de doses baixas do mineral Rádio. No entanto, a reprodutibilidade, tanto qualitativa quanto quantitativa é baixa, o que dificulta tais estudos. Desde então os efeitos estimulantes das radiações eletromagnéticas têm sido observados em uma ampla gama de seres vivos, desde protozoários e bactérias até plantas e animais superiores, incluindo o homem. (NIEMANN et al., 1976).

O efeito estimulante das radiações gama foi comprovado por diversos pesquisadores, em diferentes organismos como bactérias, fungos, leveduras, algas, plantas, invertebrados e até mesmo no homem (LUCKEY, 1980, WIENDL et al., 1995, FRANCO, 1999; BOVI, ARTHUR, TESSARIOLI NETO, 2003, WIENDL, 2010 e outros). Os exemplos mais conhecidos de efeitos benéficos de doses baixas de radiação em plantas e animais são o aumento na germinação de sementes, a aceleração no crescimento, o aumento da longevidade, a melhora da fertilidade, a prevenção de tumores e o aumento na resistência à infecção (BROWN, 1988).

O mecanismo de ação da hormesis não é totalmente compreendido, mas especula-se, que ele esteja relacionado com a produção de radicais livres, reparo e substituições celulares (SAGAN, 1987).

Radicais livres em altas concentrações produzem danos aos tecidos por meio de interações, por exemplo, com DNA, proteínas, lipídeos das membranas celulares, produzindo peróxidos lipídicos (OKAZAKI, 1995).

Ainda de acordo com OKAZAKI, 1995, estudos sugerem que, baixas concentrações de radicais livres podem ser benéficas e mesmo necessárias para o crescimento celular. O organismo vivo dispõe de um sistema defensivo contra os efeitos de radicais livres gerados pela radiação ou por outros agentes, por uma série de antioxidantes, incluindo as enzimas catalase, peroxidase, superóxido dismutase e certos íons metálicos. Reações entre

estes agentes, oxidantes e antioxidantes são pouco compreendidas. Admite-se que a extensão do dano ao tecido seja decorrente do equilíbrio entre radicais livres gerados e o sistema defensivo de proteção com os antioxidantes. Estas observações sugerem uma possível explicação para a proteção resultante de radiação de doses baixas ou outros agentes que produzem radicais livres.

Se a radiação estimula a síntese de antioxidantes têm-se então um aumento geral na sua produção contra oxidantes. Vários autores têm demonstrado que um destes antioxidantes, a timidina-kinase tem seu teor aumentado pela radiação em doses baixas (OKAZAKI, 1995).

Ainda, no caso de radiações hormesis, as baixas doses estimulantes podem não excluir a existência de efeitos adversos e sendo assim, ambos os efeitos coexistem, provocando ao mesmo tempo efeitos benéficos e danosos (SAGAN, 1991).

As doses radioestimulantes em vegetais variam não apenas com os fatores edafoclimáticos do local de cultivo, mas também com o genótipo, uma vez que variedades diferentes de uma mesma espécie têm levado a resultados bastante diferentes para uma mesma dose (BADR et al., 1997; MONTI e DONINI, 1968; ABDEL-FATTAH, 1993, e outros).

HAUT, 1998, em sua tese de doutorado que analisou diversos trabalhos e teorias formuladas para explicação do fenômeno hormesis, concluiu dizendo que “Alguns sistemas celulares e organismos mostram sob condições muito específicas, Hormesis e reações adaptativas”. Também conclui que as radiações induzem o sistema de defesa e reparação celular e, como este estímulo situa-se na fronteira dos efeitos benéficos e pode atingir os efeitos danosos, o efeito final deve apresentar balanço positivo. Uma vez que esta reação não é provada para todos os sistemas, ainda não é possível no presente momento uma conclusão final sobre o tema.

O emprego de radiações ionizantes surgiu como método alternativo de se aumentar a produção de culturas de importância econômica. Dependendo do nível da dose de radiação ionizante, os organismos apresentam ou não modificações aparentes tais como inibição, morte ou estimulação (BOVI, ARTHUR, TESSARIOLI NETO, 2003).

A irradiação de sementes de plantas com determinadas doses de radiação pode promover o aumento e/ou aceleração da germinação, maior desenvolvimento da planta, aumento da produção agrícola e outros. Para a estimulação doses baixas de radiação são mais efetivas porque não inibem a germinação das sementes, o brotamento de tubérculos, e induzem mutações (BOVI, ARTHUR, TESSARIOLI NETO, 2003).

A utilização da energia nuclear para o estímulo de vegetais, sozinha ou conjuntamente com os métodos convencionais para se obter um aumento de produção, pode se tomar uma alternativa para um melhor aproveitamento agrícola (BOVI, ARTHUR, TESSARIOLI NETO, 2003).

Em comparação com métodos já citados a radiohormese se apresenta como um método mais rápido e que requer menor investimento tecnológico.

A irradiação de plantas pode resultar em morte, inibição do crescimento, alteração do metabolismo, anomalias morfológicas e mutações. A intensidade dos efeitos depende de características da radiação, das espécies estudadas e da idade das plantas. O estudo dos efeitos da radiação ionizante em plantas pode ser conduzido em pólen, embriões, sementes, raízes, etc. O parâmetro de análise pode ser o crescimento das plantas, alterações morfológicas e histológicas, efeito sobre os hormônios, etc (CASARETT, 1968a).

Durante a década compreendida entre 1974 e 1984, muitos experimentos sobre mutação radioinduzida em sementes de soja foram realizadas para a obtenção de linhagens mutantes, algumas das quais altamente radiosensíveis (SMUTKUPT et al., 1985).

O grau de radiosensibilidade de um embrião de planta depende da espécie, do estágio de desenvolvimento deste embrião durante a irradiação e do critério usado para medir o efeito biológico. Um dos critérios mais comuns de avaliar a radiosensibilidade de sementes é medir a altura da planta em um tempo determinado após a germinação (CASARETT, 1968a).

Define-se GR₅₀ (growth reduction to 50%) como a dose de radiação necessária para provocar uma redução de 50% na altura média da população estudada.

As sementes dormentes são menos radiosensíveis do que as sementes com embriões em desenvolvimento, provavelmente devido ao seu estado quiescente caracterizado por pouca divisão ou diferenciação e também ao seu baixo conteúdo de água (CASARETT, 1968a).

Define-se LD₁₀₀ à dose de radiação requerida para matar toda a população de plantas estudadas. Define-se LD₅₀ à dose letal que mata metade da população de plantas estudadas (HALL, 1994).

O conteúdo de água de sementes tem grande influência sobre sua radiosensibilidade (CASARETT, 1968). Esta variação se deve à concentração de radicais livres que aumenta várias vezes após a irradiação e não se trata de um fenômeno linear. Outros fatores que modificam a radiosensibilidade das sementes são: idade, tempo de armazenamento, deficiência nutricional, balanço hormonal, fase do ciclo celular, etc.

Pesquisas têm sido realizadas no sentido de avaliar possíveis efeitos herméticos em plantas, principalmente com o uso de herbicidas. A resposta estimulatória é medida em diferentes parâmetros variando de crescimento com base no peso, altura ou área foliar, ou ainda mudanças fisiológicas, como teor de proteína. O efeito hormesis pode provocar diferentes respostas estimulatórias, que depende do produto químico que está sendo aplicado, da planta que está recebendo esse composto, e como ele age na morfologia e na fisiologia dessa planta. Alguns desses mecanismos causados por hormesis podem representar tentativas fisiológicas na planta, que faz com que esta tente compensar o estresse químico (WIEDMAN; APPLEBY, 1972).

Em trabalho de hormese com herbicidas, NASCENTES em 2016, pode concluir que a aplicação de glyphosate em baixas doses promoveu incrementos de massa seca de folha, caule e caule+folha em plantas de cana-de-açúcar e eucalipto.

Sendo assim, é necessário um estudo mais aprofundado em espécies e variedades de uso comercial no Brasil, em condições edafoclimáticas específicas e em variedades comerciais de culturas específicas, o que permitirá a utilização desta técnica em larga escala, com benefícios ambientais, sociais e econômicos.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 MATERIAL

- **Matéria prima**

As sementes de soja utilizadas foram cedidas pela Cooperativa dos Cafeicultores da Média Sorocabana - Coopermota, localizada no município de Palmital/SP e pelo produtor rural Gilberto Dias Paião. Foi utilizada a variedade de soja convencional G02 da Syngenta.

5.2 MÉTODOS

- **Preparo das amostras em Laboratório e Tratamento por irradiação**

A separação das sementes foi realizada em 5 (cinco) sacos de Polipropileno de 200 g com 250 sementes. Após esse procedimento, na primeira etapa, as mesmas foram irradiadas com doses de: 0 (testemunha); 75 Gy; 100 Gy; 125 Gy e 150 Gy. Na segunda etapa foram utilizadas doses menores, sendo 0 (testemunha), 25 Gy, 50 Gy, 75 Gy e 100 Gy, com taxa de dose única (0,145 kGy/hora). Na terceira etapa utilizou-se as doses de 0 (testemunha), 10 Gy, 15 Gy, 20 Gy e 25 Gy, com taxa de dose única (0,145 kGy/hora). A irradiação foi proveniente de uma fonte de Cobalto-60, tipo Gammabeam-650 e tipo Gammacell-220, instaladas no Centro de Energia Nuclear na Agricultura CENA/USP, Piracicaba, SP. Figura 2.

Fonte: CENA/USP

Figura 2: Fontes de Cobalto-60: tipo Gammabeam-650 a direita e tipo Gammacell-220 a esquerda, CENA/USP, Piracicaba,SP

- **Semeadura**

A semeadura foi realizada manualmente de forma a obter-se uniformidade na distribuição das sementes nas linhas de plantio. Foram distribuídas 25 sementes por metro

linear, visando obter o estande ideal recomendado para a cultivar. Foi utilizado o espaçamento de 0,45 m entre linhas, com quatro linhas de 2 metros de comprimento por tratamento. Foi aplicado fertilizante NPK, formulação 02-20-20, conforme recomendação baseada na análise de solo (anexo 2), calculando doses visando a máxima produtividade.

As sementes irradiadas foram analisadas para teste de germinação e vigor no Laboratório da FEMA de Assis. Conforme resultado (anexo 1), pode-se observar que não ocorreram alterações significativas na germinação das sementes irradiadas quando comparadas a testemunha.

Na casa de vegetação do CENA, as sementes foram semeadas em vasos em um total de 6 sementes por vaso (Figura 6).

Quanto ao local, a pesquisa de campo foi realizada na propriedade rural denominada Sítio Recanto 4 S, localizado no bairro Água Nova, no município de Palmital - SP, localizado a 22°47' de latitude Sul, 50°13' de longitude Oeste e 508 m de altitude, solo tipo Latossolo Roxo Distrófico. O município é tradicional produtor desta oleaginosa, onde predomina o tipo de solo Latossolo Roxo Distrófico. Também, na segunda e terceira etapa da pesquisa, o experimento foi conduzido em vasos na casa de vegetação localizada no CENA – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, em Piracicaba – SP.

Fonte: Franco, 2016

Figura 3. Sementes de soja irradiadas

- **Época de Semeadura**

A semeadura foi realizada em 15 de novembro de 2013, sendo esta a época ideal para semeadura da soja, ou seja, uma época tecnicamente recomendada, quando ocorrem temperaturas, umidades e relação fotoperiódica favorável a esta cultura. As avaliações foram realizadas aos 15, 30, 60, 90 e 120 dias após o plantio. Na segunda etapa a semeadura ocorreu tanto no campo como em casa de vegetação, em 12 de novembro de 2014. Já no terceiro ano a semeadura ocorreu no dia 03 de dezembro de 2015.(Figura 4).

Fonte: Franco, 2014

Figura 4: emergência de soja semeada no campo

- **Condução do experimento**

O ciclo da cultura foi acompanhado, no campo, com base na “Escala Fenológica” proposta por FEHR e CAVINESS (1977) Figura 5, sendo que após a emergência das plantas, foram adotados os tratos culturais necessários durante as três etapas.

Fonte FEHR e CAVINESS (1977)

Figura 5. Estádios fenológicos da soja

As parcelas foram irrigadas visando permitir a emergência das plântulas e garantir o pleno desenvolvimento vegetativo e reprodutivo das plantas. Também foram realizados os

tratamentos fitossanitários visando combater as pragas, doenças e plantas invasoras que surgiram, dentro dos níveis de controle (foram realizadas uma aplicação de herbicida Glifosato na dose de 2 L.ha⁻¹, para controle das plantas invasoras; duas aplicações de inseticidas organofosforado na dose de 2 L.ha⁻¹, para controlar lagartas e percevejos e uma aplicação de fungicida triazol na dose de 5 L.ha⁻¹, para controle da ferrugem asiática).

• Delineamento experimental

O delineamento do experimento foi implantado com blocos ao acaso e constou de um fatorial com cinco tratamentos, quatro doses de radiação gama e o controle, com quatro repetições cada tratamento, com 50 sementes cada repetição, em um total de 250 sementes por tratamento, para cada taxa de dose de radiação gama. As sementes foram irradiadas à tarde e semeadas pela manhã do dia seguinte em canteiro previamente preparado para recebê-las. O canteiro foi subdividido e procedeu-se com o sorteio dos blocos e das diferentes doses utilizadas que resultou no esquema apresentado nos Tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1. Esquema de distribuição das parcelas com delineamento em campo experimental no primeiro ano (safra 2013/2014).

Doses de radiação				
125 Gy	150 Gy	150 Gy	0	75 Gy
125 Gy	100 Gy	125 Gy	0	0
75 Gy	0	75 Gy	100 Gy	150 Gy
75 Gy	150 Gy	125 Gy	100v	100 Gy

Tabela 2. Esquema de distribuição das parcelas com delineamento em campo experimental no segundo ano (safra 2014/2015).

Doses de radiação				
75 Gy	100 Gy	100 Gy	0	25 Gy
75 Gy	50 Gy	75 Gy	0	75 Gy
25 Gy	0	25 Gy	50 Gy	100 Gy
25 Gy	100 Gy	0 Gy	50 Gy	50 Gy

Tabela 3. Esquema de distribuição das parcelas com delineamento em campo experimental no terceiro ano (safra 2015/2016).

Doses de radiação				
10 Gy	0	25 Gy	0	15 Gy
15 Gy	20 Gy	0	25 Gy	10 Gy
10 Gy	25 Gy	0	20 Gy	15 Gy
25 Gy	15 Gy	20 Gy	10 Gy	20 Gy

No ensaio na casa de vegetação, as sementes de soja foram expostas a baixas doses de radiação gama de fonte Cobalto 60, tipo Gammecell-220, a taxa de dose 0,245 kGy, a fim de estudar os efeitos de estimulação da radiação sobre a germinação e produção. Cinco tratamentos com diferentes doses de radiação foram aplicados da seguinte maneira: 0 (controle); 12,5; 25,0; 50,0; 75,0 a 100,0 Gy. A germinação, número de sementes colhidas e peso e produção total foram avaliadas para identificar ocorrência de estimulação. Sementes e plantas de soja foram tratadas seguindo o padrão para a produção de sementes no Brasil. As sementes irradiadas foram semeadas logo na manhã seguinte em vasos previamente preparados, utilizando as mesmas doses de radiação utilizadas nos ensaios de campo. Na Figura 6, podemos visualizar o ensaio. O delineamento experimental utilizado na análise da variância dos dados foi de experimentos em blocos, prosseguiu com três repetições (3 blocos) e seis tratamentos diferentes (5 doses nos dois primeiros anos e 4 doses no último ano). Para análises dos dados numéricos foi utilizado o teste de Tukey para comparar os valores médios dos diferentes blocos.

Fonte: Franco, 2016

Figura 6. soja semeada em casa de vegetação no CENA.

5.3 PARÂMETROS AVALIADOS NO CAMPO

- **Altura final de planta**

Foi considerada como altura final de planta, a distância compreendida entre a superfície do solo e o ápice da haste principal da planta.

- **Número final de nós vegetativos**

Utilizando as amostras constituídas de quatro plantas, foi realizada a contagem do número de nós no estágio R8.

- **Número de ramificações por planta**

Foi obtido por contagem direta do número de ramos inseridos na haste principal da planta e nas ramificações primárias desta.

- **Número total de vagens por planta**

Foi feita através da contagem direta do total das vagens existentes.

- **Número de sementes por planta**

Foi obtido pela relação entre o número total de sementes existentes e o número total de vagens.

- **Produtividade**

As plantas colhidas foram trilhadas, abanadas em peneiras, separando as sementes e pesando em balança de precisão. Figura 7.

Fonte: Franco, 2017.

Figura 7. Trilhadora da APTA de Assis, usada na trilhagem das sementes do experimento

5.4 AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO

Esta etapa da pesquisa foi realizada em parceria com o Laboratório de Fitoterápicos e Farmacologia da Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências e Letras - Campus de Assis - Departamento de Ciências Biológicas, sob coordenação do professor Dr. Regildo Márcio G. da Silva, tendo como objetivo avaliar o potencial genotóxico e a qualidade do óleo de sementes de *G. max* (soja) produzidas por indivíduos provenientes de nossas sementes irradiadas. Para tanto foi utilizado o Teste *Allium cepa*, avaliando distúrbios do processo mitótico, aberrações cromossômicas e frequência de micronúcleos. A metodologia adotada no processo de avaliação do potencial genotóxico e da qualidade do óleo seguirá as seguintes etapas:

5.4.1 Extração do óleo

As sementes de soja foram trituradas em moinho de grão (Figura 8). Logo após, foi determinada a umidade para cada amostra por meio da dessecação em estufa de ar forçado com uma temperatura média de 100°C, sendo mensurado o peso de cada amostra a cada 12 horas por 48 horas. Após obtenção de peso constante para cada amostra, cerca de 20 gramas da mesma foram envolvidos em papel de filtro e o conjunto foi transferido para cápsulas de aço inoxidável de 250 *mesh* e colocado em extrator de gordura e lipídeo tipo *Soxhlet* para retirada do óleo (Figura 9). Foram utilizados para extração, três diferentes solventes: etanol, metanol e hexano e duas misturas de etanol/metanol e metanol/hexano nas proporções de 1:1 e de 3:1. O conjunto de extração de *Soxhlet* foi aquecido inicialmente durante 2, 4, 6, 8 e 10 horas para determinação do tempo ótimo de extração. Após a extração o material sólido contido na cápsula foi transferido para estufa até peso constante e o material contido no balão

foi transferido para evaporador rotativo até a retirada total do solvente. As quantidades de torta e óleo retiradas da semente foram determinadas por gravimetria.

Fonte: Franco, 2017.

Figura 8. Moinhos de grãos do Laboratório de Fitoterápicos, Departamento de Biotecnologia, Faculdade de Ciências e Letras de Assis

Fonte: Franco 2017.

Figura 9: Extrator de gordura do Laboratório de Fitoterápicos, Departamento de Biotecnologia, Faculdade de Ciências e Letras de Assis

5.4.2 Caracterização físico-química dos óleos

A caracterização físico-química dos óleos foi realizada empregando métodos normatizados (AOCS, 1990 e 1993), conforme descrito a seguir: (a) Índice de Iodo (II), pelo método AOCS Cd-1-25, similar ao ASTM D5554-95 (2006), o qual permite a determinação

do grau de insaturação de um óleo pela porcentagem de iodo absorvido pela amostra; (b) Índice de acidez (IA), pelo método AOCS Cd-3d-63, similar ao ASTM D664-06a, que está associado ao número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para neutralizar os ácidos livres em um grama de amostra; (c) Índice de Saponificação (IS), pelo método AOCS Cd-3-25, similar ao ASTM D5558-95 (2006), o qual pode ser definido como a quantidade de hidróxido de potássio necessária para saponificar uma quantidade definida de amostra. O IS foi utilizado para calcular a massa molar média (MM) da amostra de óleo que, posteriormente, foi empregada para o cálculo da quantidade de reagentes e quantificação dos produtos das reações de transesterificação.

5.4.3 Determinação da citotoxicidade e genotoxicidade em células meristemáticas de raiz de *Allium cepa*

Para verificação da atividade citotóxica e genotóxica dos óleos obtidos da soja experimental e padrão sobre células de raiz de *Allium cepa* L (cebola), semente de cebola foram previamente germinadas em placas de *Petri* contendo papel de germinação umedecido com água destilada, quando as raízes das plântulas atingiram 1cm em média de comprimento as mesmas foram utilizadas para montagem de um experimento em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Cada parcela foi constituída de uma placa de *Petri* contendo 25 plântulas de cebola, em quatro repetições por tratamento. As plântulas de cebola foram expostas a água resultante dos testes por um período de 48 horas, após este período foram recolocadas em placa de *Petri* contendo água destilada até atingirem 5cm médio de comprimento (período de recuperação) e, por fim, foi realizada a coleta das raízes. Todo o experimento foi realizado em condições de umidade relativa, temperatura e luminosidade controladas artificialmente em estufas de germinação tipo BOD. Após a coleta, as raízes foram fixadas em Carnoy (álcool etílico absoluto e ácido acético glacial, 3:1) por 8 horas em temperatura ambiente, após este período a solução de Carnoy foi substituída por uma solução recém preparada e as raízes foram armazenadas sob 4°C até a preparação e análise das lâminas.

5.4.4 Preparo e Análise de lâminas

As raízes foram hidrolisadas em ácido clorídrico (HCl) 1N a 60°C, durante 8 minutos, e posteriormente foram coradas em Reativo de Schiff por 2 horas ao abrigo da luz. As raízes foram colocadas sobre lâminas e adicionado uma gota de Carmin acético 2% sobre o meristema e as mesmas foram cobertas por lamínulas. Em seguida foram esmagadas e fixada

em chama de lamparina. As análises foram realizadas em microscópio óptico (aumento de 100x com auxílio de óleo de imersão). Foram utilizadas cinco raízes por parcela, onde foram observadas 5.000 células/tratamento. Os efeitos citotóxicos dos extratos foram determinados pela análise do índice mitótico (n° total de células em divisão/ n° total de células analisadas x 100) e índice de morte celular (n° total de células em morte/ n° total de células analisadas x 100). As aberrações cromossômicas também foram determinadas (anáfase e telófase aberrantes), e suas frequências utilizadas para determinar o índice de alterações cromossômicas (n° total de células alteradas/ n° total de células analisadas x 100). Já a determinação da frequência de células micronucleadas foi utilizada para determinar os efeitos mutagênicos, por meio da análise do índice de mutagenicidade (n° de células com micronúcleo e quebras/ n° total de células analisadas x 100). Para a análise estatística do ensaio de *A. cepa* os resultados foram submetidos aos testes não paramétricos: Kruskal-Wallis e Mann-Whitney (nível de significância da análise de 5% e 1%) de acordo com LEME e MARIN-MORALES (2009).

6. ARGUMENTAÇÃO SOBRE OS RESULTADOS

6.1 Resultados do campo

6.1.1 Altura da planta

Nas Tabelas 4, 5 e 6 constam os valores médios e desvio padrão da altura das plantas em centímetro provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 e para elucidar melhor esses resultados construiu-se figura 10. O teste estatístico aplicado foi o ANOVA ordinário de comparação múltipla com teste Tukey (intervalo de confiança de 95% - $P < 0,05$). Pelos resultados obtidos podemos observar que não houve diferença significativa entre os tratamentos com relação à altura das plantas nas três épocas em que foram realizados os ensaios. Mas se analisarmos os valores médios dessas tabelas podemos observar que os melhores resultados foram obtidos pelo tratamento controle, na dose de 75 Gy e com 10 Gy respectivamente.

Tabela 4. Valores médios e desvio padrão da altura das plantas em centímetro provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2013 a 2014).

Doses (Gy)	Altura (cm)
0	49,00±11,31 a*
75	41,50±13,44 a
100	46,00±12,73 a
125	39,00±9,90 a
150	31,00±15,56 a

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Tabela 5. Valores médios e desvio padrão da altura das plantas em centímetro provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2014 a 2105).

Doses (Gy)	Altura (cm)
0	80,50±21,92 a*
25	80,00±24,04 a
50	73,50±41,72 a
75	82,00±26,87 a
100	75,50±27,58 a

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Tabela 6. Valores médios e desvio padrão da altura das plantas em centímetro provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2015 a 2016).

Doses (Gy)	Altura (cm)
0	72,00 ± 7,07a*
10	79,50±12,02a
15	76,50±14,85a
20	65,50±16,26a
25	69,50±21,92a

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Figura 10. Valores médios da altura das plantas em centímetro provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safr 2013 a 2014; Safr 2014 a 2105 e Safr 2014 a 2105).

6.1.2 Número final de nós vegetativos

Constam nas Tabelas 7, 8 e 9 os valores médios e desvio padrão de nós vegetativos das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60, e para elucidar melhor esses resultados construiu-se a figura 11. O teste estatístico aplicado foi o ANOVA ordinário de comparação múltipla com teste Tukey (intervalo de confiança de 95% - $P < 0,05$). Pelos resultados obtidos podemos observar que não houve diferença significativa entre os tratamentos com relação ao número de nós vegetativos nas três épocas em que foram realizados os ensaios. Mas se analisarmos os valores médios dessas tabelas podemos observar que os melhores resultados foram obtidos pelo tratamento nas doses de 25 e 100 Gy.

Tabela 7. Valores médios e desvio padrão de nós vegetativos das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safr 2013 a 2014).

Doses (Gy)	Número de nós vegetativos
0	13,00±4,24a*
75	19,50±0,71a
100	20,00 ±1,41a
125	19,00±1,41a
150	15,50±4,95a

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Tabela 8. Valores médios e desvio padrão de nós vegetativos das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2014 a 2105).

Doses (Gy)	Numero de nós vegetativos
0	13,00±2,83a*
25	16,00±2,83a
50	17,50±2,12a
75	19,00±1,40a
100	20,00±2,83a

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Tabela 9. Valores médios e desvio padrão de nós vegetativos das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2015 a 2106).

Doses (Gy)	Número de nós vegetativos
0	13,50 ±3,54a*
10	17,50±2,12a
15	16,00±1,41a
20	14,50±3,54a
25	18,00±2,83a

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Figura 11. Valores médios de nós vegetativos das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2013 a 2014; 2014 a 2105 e 2015 a 2016).

6.1.3 Número final de ramificações por planta

Constam nas Tabelas 10, 11 e 12 os valores médios e desvio padrão do número de ramificações por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60, e para elucidar melhor esses resultados construiu-se o figura 12. O teste estatístico aplicado foi o ANOVA ordinário de comparação múltipla com teste Tukey (intervalo de confiança de 95% - $P < 0,05$). Pelos resultados obtidos podemos observar que não houve diferença significativa entre os tratamentos com relação ao número de ramificações por plantas nas três épocas em que foram realizados os ensaios. Mas se analisarmos os valores médios dessas tabelas podemos observar que os melhores resultados foram obtidos pelos tratamentos nas doses de 75 e 100 Gy; 25 e 100 Gy e 10 Gy respectivamente.

Tabela 10. Valores médios e desvio padrão de ramificações por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2013 a 2014).

Doses (Gy)	Número de ramificações/planta
0	12,00±4,24a*
75	17,50±2,12a
100	17,50±6,36a
125	11,00±4,24a
150	10,50±3,54a

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Tabela 11. Valores médios e desvio padrão de ramificações por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2014 a 2105).

Doses (Gy)	Número de ramificações/planta
0	11,50±4,95a*
25	18,00±5,66a
50	16,00±5,66a
75	17,50±3,54a
100	18,00±7,07a

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Tabela 12. Valores médios e desvio padrão de ramificações por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safr 2015 a 2106).

Doses (Gy)	Número de ramificações/planta
0	12,50±3,54a*
10	16,00±5,66a
15	13,50±2,12a
20	13,50±2,12a
25	15,00±4,24a

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Figura 12. Valores médios de ramificações por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safr 2013 a 2014; 2014 a 2105 e 2015 a 2016).

6.1.4 Número final de vagens por planta

Constam nas Tabelas 13, 14 e 15 os valores médios e desvio padrão de vagens por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 e para elucidar melhor esses resultados construiu-se a figura 13. O teste estatístico aplicado foi o ANOVA ordinário de comparação múltipla com teste Tukey (intervalo de confiança de 95% - $P < 0,05$). Pelos resultados obtidos podemos observar que não houve diferença significativa entre os tratamentos com relação ao número de vagens por planta nas três épocas em que foram realizados os ensaios. Mas se analisarmos os valores médios dessas tabelas podemos observar que os melhores resultados foram obtidos nos tratamentos nas doses de 75 Gy, 25 Gy e 10 Gy respectivamente.

Tabela 13. Valores médios e desvio padrão do numero de vagens por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2013 a 2014).

Doses (Gy)	Número de vagens/planta
0	50,00±26,87a*
75	61,00±45,25a
100	43,50±27,58a
125	32,50±12,02a
150	41,50 ±21,92a

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Tabela 14. Valores médios e desvio padrão do numero de vagens por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2014 a 2105).

Doses (Gy)	Número de vagens/planta
0	38,00±26,87a*
25	56,00±24,04a
50	37,50±34,65a
75	46,00±9,90a
100	43,50±12,02a

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Tabela 15. Valores médios e desvio padrão do numero de vagens por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2015 a 2106).

Doses (Gy)	Número de vagens/planta
0	22,50±16,26a*
10	57,50±45,96a
15	35,50±10,60a
20	25,50±13,44a
25	53,00±52,33a

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Figura 13. Valores médios de vagens por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safra 2013 a 2014; 2014 a 2105 e 2015 a 2016).

6.1.5 Número médio de sementes por planta

Constam nas Tabelas 16, 17 e 18 os valores médios e desvio padrão de sementes por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60, e para elucidar melhor esses resultados construiu-se a figura 14. O teste estatístico aplicado foi o ANOVA ordinário de comparação múltipla com teste Tukey (intervalo de confiança de 95% - $P < 0,05$). Pelos resultados obtidos podemos observar que não houve diferença significativa entre os tratamentos com relação ao número médio de sementes por planta nas três épocas em que foram realizados os ensaios. Mas se analisarmos os valores médios dessas tabelas podemos observar que os melhores resultados foram obtidos pelos tratamentos nas doses de 75 Gy, 25 Gy e 25 Gy respectivamente.

Tabela 16. Valores médios e desvio padrão do numero de sementes por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safra 2013 a 2014).

Doses (Gy)	Número de sementes/planta
0	106,50±19,09a*
75	136,50±70,00a
100	99,00±38,1a
125	77,00±17,07a
150	96,00±25,46a

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Tabela 17. Valores médios e desvio padrão do numero de sementes por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2014 a 2015).

Doses (Gy)	Número de sementes/planta
0	85,50±40,31a*
25	131,50±20,51a
50	81,50±60,10a
75	111,50±27,78a
100	104,50±20,71a

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Tabela 18. Valores médios e desvio padrão do numero de sementes por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2015 a 2016).

Doses (Gy)	Número de sementes/planta
0	50,50±24,75a*
10	127,50±74,25a
15	85,50±17,41a
20	59,00±15,56a
25	129,00±72,12a

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Figura 14. Valores médios de sementes por plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2013 a 2014; 2014 a 2015 e 2015 a 2016).

6.1.6 Produtividade total dos tratamentos

Constam nas Tabelas 19, 20 e 21 os valores médios e desvio padrão da produtividade em gramas das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60, e para elucidar melhor esses resultados construiu-se a figura 15. O teste estatístico aplicado foi o ANOVA ordinário de comparação múltipla com teste Tukey (intervalo de confiança de 95% - $P < 0,05$). Pelos resultados obtidos não houve diferença significativa entre os tratamentos com relação a produtividade total dos tratamentos nas três épocas em que foram realizados os ensaios. Contudo ao analisarmos a Tabela 19, verifica-se que houve maior produtividade no controle, na dose de 25 Gy e 100 Gy. Na Tabela 20, a dose de 100 Gy. Na Tabela 20, a dose de 100 Gy levou uma redução da produtividade da soja comparadas com o controle, ao passo que as doses de 25, 50 e 75 Gy não diferiram da produtividade controle. Na Tabela 21, pode ser observado que as submetidas às doses de 20 e 25 Gy, proporcionaram maiores produtividades do que o tratamento controle e os tratamentos com 10 e 15 Gy.

Tabela 19. Valores médios e desvio padrão da produtividade em gramas das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safra 2013 a 2014).

Doses (Gy)	Produtividade (grama)
0	720±23,34a*
75	335±21,32a
100	335±24,39a
125	155±19,99c
150	250±27,09b

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Tabela 20. Valores médios e desvio padrão da produtividade em gramas das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2014 a 2015).

Doses (Gy)	Produtividade (grama)
0	1070±17,23a
25	1155±18,33a
50	1040±15,45a
75	1020±16,66a
100	840±14.99b

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Tabela 21. Valores médios e desvio padrão da produtividade em gramas das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2015 a 2016).

Doses (Gy)	Produtividade (gramas)
0	246 ±15,32c*
10	313 ±17,65b
15	293±14,21b
20	453±18,19a
25	487±17,92a

*Medias com as mesmas letras na coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Figura 15. Valores médio da produtividade em gramas de sementes provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2013 a 2014; 2014 a 2015 e 2015 a 2016).

6.1.7 Produtividade total das parcelas

Constam nas Tabelas 22 e 23 os valores totais, média e desvio padrão da produtividade em gramas por parcela das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 e para elucidar melhor esses resultados construiu-se a figura 16. O teste estatístico aplicado foi o ANOVA ordinário de comparação múltipla com teste Tukey (intervalo de confiança de 95% - $P < 0,05$). Pelos resultados obtidos podemos observar que houve diferença significativa entre os valores de produtividade da testemunha e das parcelas irradiadas. Sendo que na Tabela 22, não é possível verificar essas diferenças nos resultados apresentados nas maiores doses. Contudo na Tabela 23 fica evidente que a dose de 25 Gy foi a que apresentou o melhor resultado quando comparada com o controle e as demais doses.

Tabela 22. Valores totais, média e desvio padrão da produtividade em gramas nas parcelas das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2014 a 2015).

Repetição/doses	Produtividade (grama) – parcela/repetição				
	0 Gy	25 Gy	50 Gy	75 Gy	100 Gy
1	150,00	190,00	95,00	150,00	180,00
2	165,00	140,00	105,00	135,00	85,00
3	135,00	130,00	125,00	130,00	90,00
4	90,00	85,00	140,00	110,00	165,00
Médias	135,00±32,40a*	136,25±43,08a	116,25±20,16b	131,25±16,52a	130,00±49,50a

* Médias com as mesmas letras na linha não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Tabela 23. Valores totais, média e desvio padrão da produtividade em gramas nas parcelas das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safrá 2015 a 2016).

Repetição/doses	Produtividade (grama) – parcela/repetição				
	0 Gy	10 Gy	15 Gy	20 Gy	25 Gy
1	70,00	100,00	40,00	130,00	80,00
2	55,00	95,00	130,00	100,00	165,00
3	61,00	78,00	50,00	113,00	122,00
4	60,00	40,00	73,00	110,00	120,00
Médias	61,50±6,24d*	78,25±27,18c	73,25±40,28c	113,25±12,47b	121,75±34,72a

Médias com as mesmas letras na linha não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Figura 16. Valores totais da produtividade em gramas nas parcelas das plantas provenientes de sementes de soja irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto 60 (Safras 2014 a 2015 e 2015 a 2016).

6.2 Resultados do experimento em casa de vegetação

Constam nas Tabelas 24, 25 e 26 os valores médios, desvio padrão, sementes plantadas, germinadas, porcentagem de germinação, peso, numero de sementes colhidas e numero de sementes saudáveis obtidas nos tratamentos com doses crescentes de radiação gama do Cobalto-60. O teste estatístico aplicado foi o ANOVA ordinário de comparação múltipla com teste Tukey (intervalo de confiança de 95% - $P < 0,05$). Pelos resultados obtidos nas tabelas podemos observar que houve diferença significativa entre os tratamentos. As doses de 25 Gy e 50 Gy foram as que apresentam os maiores valores do numero e peso das sementes obtidas nos ensaios. Os resultados das tabelas indicam que os tratamentos com doses de 25 Gy e 50 Gy foram os que apresentaram os melhores resultados em todos os parâmetros avaliados quando comparado aos outros tratamentos.

Tabela 24. Número médio de sementes plantadas, porcentagem de germinação e numero de sementes colhidas a partir de sementes irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto-60. (Safrá 2014/2015)

Doses(Gy)	Número de sementes semeadas	Porcentagem de germinação	Número de sementes colhidas
0	6	98±1,0a	19±2,2b*
25	6	97±0,9a	22±1,9a
50	6	97±0,7a	22±2,3a
75	6	98±1,2a	22±3,0a
100	6	95±0,6a	16±2,7c

*Letras minúsculas na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância no teste de Tukey.

Tabela 25. Número médio e desvio padrão de sementes plantadas, porcentagem de germinação e numero de sementes colhidas a partir de sementes irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto-60. (Safrá 2015/2016)

Doses (Gy)	Número de sementes semeadas	% de Germinação	Número de sementes colhidas	Peso das sementes em gramas
0	6	67±2,6a*	10±1,4ab	5,1±0,7ab
10	6	66±3,1a	12±1,1a	5,5±0,5a
15	6	67±3,3a	12±2,0a	5,6±0,9a
20	6	66±2,6a	11±1,7ab	5,3±0,3ab
25	6	66±2,9a	12±1,5 a	5,7±0,8a

*Letras minúsculas na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância no teste de Tukey.

Tabela 26. Valores médios e desvio padrão de sementes plantadas, germinadas, porcentagem de germinação, peso, numero de sementes colhidas e numero de sementes saudáveis obtidas a partir de sementes irradiadas com doses crescentes de radiação gama do Cobalto-60. (Safrá 2016/2017)

Dose (Gy)	Número de sementes semeadas	Número de sementes germinadas	% de germinação	Número médio de vagens por plantas	Peso médio das sementes (g)	Número médio de sementes	Número médio de sementes saudáveis
0	6	4,0±0,4b*	66,6±8,1c	33,3±5,6a	6,6±1,1b	60,0±7,9b	36,3±4,8b
12,5	6	4,6±0,6b	77,7±9,5b	22,3±4,3b	6,7±1,2b	55,3±6,2c	49,0±5,5a
25,0	6	3,6±0,2c	61,1±7,6d	19,0±3,9b	3,9±0,3c	34,0±3,1d	22,6±3,2c
50,0	6	5,0±0,8a	83,3±9,6a	36,0±5,7a	7,5±1,9a	67,3±8,2a	52,3±5,7a

*Letras minúsculas na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% de significância no teste de Tukey.

6.3 Resultados da avaliação físico-química do óleo

Na Tabela 27 estão expressos os valores encontrados para I.A., I.S., I.R e para I.I. dos óleos obtidos de sementes de *G. max* (soja) produzidas por indivíduos provenientes de sementes irradiadas. Onde é possível constatar que os valores dos índices não diferiram da amostra de óleo obtida de semente de soja provenientes de indivíduos testemunha (sem irradiação) independente da concentração e dosagem de radiação exposta.

Tabela 27. Resultados das análises físico-químicas do óleo de soja obtidos de sementes de *G. max* (soja) produzidas por indivíduos provenientes de sementes irradiadas (doses em Gy).

Amostras	Parâmetro avaliado	Resultado
0Gy	Índice de Acidez(NaOH/g óleo)	2,012± 0,100 mg
	Índice de Saponificação(KOH/g óleo)	130± 6,900 mg
	Índice de Refração	14,200±0,001
	Índice de Iodo (I ₂ /100g óleo)	52,300±1,760 mg
25Gy	Índice de Acidez (NaOH/g óleo)	2,220± 0,100 mg
	Índice de Saponificação (KOH/g óleo)	147± 3,900 mg
	Índice de Refração	13,700±0,001
	Índice de Iodo (I ₂ /100g óleo)	47,180±5,160 mg
50Gy	Índice de Acidez (NaOH/g óleo)	2,069± 0,100 mg
	Índice de Saponificação (KOH/g óleo)	134± 4,700 mg
	Índice de Refração	11,800±0,001
	Índice de Iodo (I ₂ /100g óleo)	50,110±3,230 mg
75GY	Índice de Acidez (NaOH/g óleo)	2,014± 0,100 mg
	Índice de Saponificação (KOH/g óleo)	148± 3,900 mg
	Índice de Refração	12,500±0,001
	Índice de Iodo (I ₂ /100g óleo)	54,930±2,160 mg

Gy – dosagem de radiação impostas às sementes que originaram os indivíduos produtores de sementes utilizadas no estudo para extração do óleo avaliado

Na Tabela 28 estão expressos os resultados dos índices mitóticos das células meristemáticas de raiz de *A. cepa* expostas a soluções de 10% de Óleo que receberam diferentes doses de radiação (0, 25 e 100Gy) diluído em Tween 80. De acordo com os resultados foi possível constatar que não houve diferença significativa em relação ao Índice mitótico entre os tratamentos Tween, Óleo 0, Óleo 25 e Óleo 100Gy e que houve diferença significativa em comparação ao grupo controle positivo (MMS) e negativo.

Tabela 28. Índice mitótico de células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* tratadas com os extratos Tween, Óleo 0, Óleo 25Gy, Óleo 100Gy, Controle Negativo (CN) Água destilada e Controle Positivo Metilmetanosulfonato (MMS).

Extratos	Divisão celular				Índice
	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase	Mitótico
CN	89,20±46,10a	9,40±6,65a	6,20±4,43a	8,60±5,32a	11,52±5,52a
Tween	47,75±30,63b	7,25±6,80a	7,00±7,39a	9,75±12,76a	5,39±3,25b
Óleo 0	174,50±53,0a	34,00±7,07a	10,50±0,70a	35,0±5,65a	5,91±2,30b
Óleo 25Gy	67,00±42,63b	7,75±3,86b	6,75±2,06b	6,75±4,85b	7,05±4,14b
Óleo 100Gy	30,71±23,03b	2,57±1,13b	4,57±2,93b	5,71±4,608b	5,71±2,37b
MMS	64,40±13,50a	13,00±7,30b	4,60±3,57c	15,40±6,02b	9,74±2,50c

Resultados expressos por média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem

significativamente Kruskal-Wallis e Mann-Whitney (nível de significância da análise de 5% e 1%).

Na Tabela 29 estão demonstrados os valores dos índices de morte, alterações cromossômicas e mutagenicidade das células meristemáticas de raiz de *A. cepa* expostas a soluções de 10% de Óleo que receberam diferentes doses de radiação (0, 25 e 100Gy) diluído em Tween 80. De acordo com os resultados foi possível constatar que não houve diferença significativa em relação ao Índice de Morte celular entre os tratamentos Tween, Óleo 0 e ao controle negativo, no entanto houve diferença significativa em comparação ao tratamento Óleo 25 Gy e óleo 100Gy e ao grupo controle positivo (MMS). Para o índice de aberrações cromossômicas, o tratamento com o óleo 100 Gy apresentou um aumento significativo em comparação com os demais tratamentos e controles. Já para o índice de mutagenicidade não houve diferença significativa entre os tratamentos e o controle negativo e houve diferença significativa em comparação com o controle positivo.

Tabela 29. Índice mitótico, Índice de morte, Índice de alterações cromossômicas e Índice de mutagenicidade de células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* tratadas com os extratos Tween, Óleo 0, Óleo 25Gy, Óleo 100Gy, Controle Negativo (CN) Água destilada e Controle Positivo Metilmetanosulfonato (MMS).

Extratos	Índice de Morte	Índice de alterações cromossômicas	Índice de mutagenicidade
CN	0,26±0,19a	0,26±0,10a	0a
Tween	0,27±0,03a	0,20±0,07a	0,04±0,001a
Óleo 0	0,25±0,08a	0,21±0,08a	0,04±0,001a
Óleo 25Gy	0,06±0,01b	0,21±0,03a	0,04±0,009a
Óleo 100Gy	0,07±0,02b	0,41±0,07b	0,03±0,003a
MMS	3,20±1,17c	1,20±0,59c	1,22±0,077b

Resultados expressos por média $\pm$ desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente Kruskal-Wallis e Mann-Whitney (nível de significância da análise de 5% e 1%).

Na Tabela 30 estão apresentados os resultados da determinação da frequência de micronúcleos e aberrações cromossômicas das células meristemáticas de raiz de *A. cepa* expostas a soluções de 10% de Óleo que receberam diferentes doses de radiação (0, 25 e 100Gy) diluído em Tween 80. Na análise da determinação de células micronucleadas foi observado que não houve diferença estatística na frequência de micronúcleos entre os tratamentos 100 Gy e o controle negativo e que houve diferença estatística na frequência de micronúcleos entre os tratamentos Tween, Óleo 0, 25 Gy em comparação ao controle positivo. Para a determinação da metáfase aberrante não foi observado diferença significativa entre os tratamentos Tween, Óleo 0Gy e o controle negativo, e os mesmo diferiram estatisticamente em comparação tanto com o controle positivo quanto para os tratamentos 25 e 100Gy. Já a análise da anáfase aberrante não foi observada diferença significativa entre os tratamentos 25, 100Gy e o controle negativo, e os mesmo diferiram estatisticamente em comparação tanto com o controle positivo quanto para os tratamentos Tween e Óleo 0Gy. Para a análise da telófase aberrante os tratamentos Tween, Óleo 25Gy e Óleo 100Gy não diferiram entre si e em comparação ao controle negativo, apenas diferindo do controle positivo e do tratamento Óleo 0Gy.

Tabela 30. Aberrações cromossômicas (AC), Micronúcleos (MN) e Perdas Cromossômicas de células meristemáticas de raiz de *Allium cepa* tratadas com os extratos Tween, Óleo 0, Óleo 25Gy, Óleo 100Gy, Controle Negativo (CN) Água destilada e Controle Positivo Metilmetanosulfonato (MMS).

Extratos	Micronúcleo	Metáfase Aberrante	Anáfase Aberrante	Telófase Aberrante
CN	0a	1,20±0,17a	0,600±1,342a	0,2±0,04a
Tween	0,25±0,05b	1,00±2,00a	1,500±1,291b	0a
Óleo 0 Gy	0,50±0,07b	1,00±1,41a	3,000±4,243b	1,00±0,40b
Óleo 25Gy	0,25±0,05b	0,25±0,50b	0a	0a
Óleo 100Gy	0a	0,28±0,08b	0a	0a
MMS	5,40±2,40c	7,40±0,30c	6.600±5.595c	1,00±0,22b

Resultados expressos por média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna não diferem significativamente Kruskal-Wallis e Mann-Whitney (nível de significância da análise de 5% e 1%).

• DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos em todos os ensaios realizados com sementes de soja irradiada independentemente se foi no campo ou em casa de vegetação ou em diferentes épocas de realização dos ensaios, foi possível observar que todos os parâmetros avaliados em relação aos tratamentos com irradiação, as doses de 25 Gy e 10 Gy foram as que apresentaram os melhores resultados. A irradiação de sementes e plantas, em vários estágios de desenvolvimento após a germinação das sementes e de diferentes partes da planta, foi feita por vários pesquisadores que também obtiveram estimulação que foram avaliadas por diversos parâmetros. Sendo que os resultados positivos dependeram do estágio em que o vegetal foi irradiado, além de outros fatores como a variedade da cultura e condições de cultivo etc. Por meio da irradiação de plantas e sementes nessa faixa de dose de 10 a 25 Gy os autores citados a seguir obtiveram um aumento na produção de: alface (FRANCO et al., 2010), batata (SÚSS, 1966 e DAVIES, 1973), milho (KILLION e CONSTANTIN, 1972), tomate (SIDRAK e SUESS, 1973), arroz (IQBAL e ZAHUR, 1975), rabanete (KIKUCHI, 1987), beterraba (WIENDL, 1993), cebola (WIENDL et. al., 1995). O brotamento foi acelerado em batata (FISCHNICH et. al., 1961) e obteve-se um maior número de brotos em trigo (DAVIES, 1968), cevada (DAVIES, 1970), beterraba (WIENDL, 1993), milho (FRANCO et al., 1999), tomate (WIENDL, 2010).

Já com relação ao óleo obtido de sementes de soja irradiadas, não apresentaram diferença nos resultados para I.A., I.S., I.R e I.I. em comparação ao óleo obtido de sementes de soja não irradiadas. Na determinação do potencial genotóxico pelo método do teste com *A. cepa* as amostras de óleo de soja não apresentaram atividade genotóxica e citotóxica em todos os tratamentos com radiação.

Com os resultados desta pesquisa, observamos que os efeitos positivos de hormesis em resposta a doses sub-letais podem variar de acordo com vários estímulos (CALABRESE; BALDWIN, 2003) e complexos químicos (CALABRESE; BALDWIN, 2000), radiação (FELDMANN, 1986), estresse (CYPSEK; JOHNSON, 2002). Estes mesmos autores indicam que um dos pontos de validação nesta pesquisa com hormesis foi o crescimento possibilitado pelas baixas concentrações de radicais livres que podem ter beneficiado um crescimento celular. As sementes de soja irradiadas dispõem de um sistema defensivo contra os efeitos de radicais livres gerados pela radiação, por uma série de antioxidantes, incluindo as enzimas catalase, peroxidase, superóxido dismutase e certos íons metálicos. Reações entre estes agentes, oxidantes e antioxidantes são pouco compreendidas.

Admite-se que a extensão do dano ao tecido seja decorrente do equilíbrio entre radicais livres gerados e o sistema defensivo de proteção com os antioxidantes. Estas observações sugerem uma possível explicação para a proteção resultante de radiação de doses baixas ou outros agentes que produzem radicais livres. A radiação deve ter estimulado a síntese de antioxidantes causando então um aumento geral na sua produção contra oxidantes.

Vários autores têm demonstrado que um destes antioxidantes, a timidina-kinase tem seu teor aumentado pela radiação em doses baixas (OKAZAKI, 1995). Talvez esse seja um dos fatores que explicam os resultados positivos desta pesquisa. Outras pesquisas têm sido realizadas no sentido de avaliar possíveis efeitos horméticos em plantas. As respostas estimulatórias podem ser observadas em diferentes parâmetros variando de crescimento com base no peso, altura ou área foliar, ou ainda mudanças fisiológicas, como teor de proteína. O efeito hormesis pode provocar diferentes respostas estimulatórias, que depende do agente que está sendo aplicado, da planta que está recebendo esse composto, e como ele age na morfologia e na fisiologia dessa planta. Alguns desses mecanismos causados por hormesis pode representar tentativas fisiológicas na planta, que fez com que estas tentassem compensar esse estresse provocado pela irradiação (WIEDMAN; APPLEBY, 1972).

7. CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos podemos concluir que:

- A dose de 25 Gy foi a que apresentou melhores resultados em todos os parâmetros vegetativos avaliados das sementes de soja irradiadas.
- As amostras de óleo de sementes de soja irradiada não apresentaram atividade genotóxica e citotóxica.
- Com relação a qualidade, o óleo obtido de sementes de soja irradiadas, não apresentaram diferenças nos resultados para I.A., I.S., I.R e I.I. em comparação ao óleo obtido de sementes não irradiadas, portanto podemos concluir que as sementes irradiadas mantiveram as mesmas características físico-químicas do padrão.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-FATTAH, M.A. **Stimulation effect of gamma radiation on two tomato cultivars and their first-generation Hybrid**. Tese Doutorado, Universidade da Alexandria, Faculdade de Agricultura, 1993.
- AKINBORO, A.; BAKARE, A. A. Cytotoxic and genotoxic effects of aqueous extracts of five medicinal plants on *Allium cepa* Linn. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 112, p. 47-475, 2007.
- AGRIANUAL. **Anuário estatístico da agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP, p.490-496, 2010.
- AL-SAFADI, B.; SIMON, P.W. Gamma irradiation-induced variation in carrots (*Daucus carota* L.). *Journal American Society of Horticultural Science*, v.121, n.4, p.599–603, 1996.
- AL-SAFADI, B.; SIMON, P.W. The effect of gamma radiation on the growth and cytology of carrot tissue culture. *Environ. and Experimental Botany*, v. 30, p. 361-371, 1990.
- ARANTES, N. E.; SOUZA, P. I. M. Simpósio sobre Cultura da Soja nos Cerrados. *Potafos*, Piracicaba, 535 p., 1.993.

- BABATUNDE, B. B., BAKARE, A. A. Genotoxicity screening of wastewaters from Agbara Industrial estate Nigeria evaluated with the Allium test. *Pollution Research* n. 25, p. 227-234, 2006.
- BADR, H. M.; ALSADON, A. A.; AL-HARBI, A. R. Stimulation effects of gamma radiation on growth and yield of two tomato (*Lycopersicon esculentum*, Mill.) cultivars. J. King Saudi Univ. *Agric. Sci.*, v. 9, n. 2, p. 277-286, 1997.
- BAGATINI, M. D.; DA SILVA, A. C. F.; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n.3, p. 36-43, 2007.
- BAKARE, O., MOSURO, A. A.; OSIBANJO, A. A., Effect of simulated leachate on chromosomes and mitosis in roots of *Allium cepa* (L.). *Journal of Environmental Biology*, n. 21, p. 263-271, 2000.
- BARROS, A. C.; ARTHUR, V. Determinação experimental da dose de redução do crescimento (GR50) e da dose letal (LD50) de soja irradiada por raios gama. *Inst. Biol.*, São Paulo, v.72, n.2, p. 249-253, 2005.
- BOVI, J. E.; ARTHUR, V.; TESSARIOLI NETO, J. Effect of low gamma irradiation of beet seeds on plant growth and yield. *Journal of Nuclear Agriculture and Biology*, New Delhi, v. 32, n. 2, p. 122-124, 2003.
- BROWN, K. Does a little radiation do you good? *Atom*, 378, 26-27, 1988.
- CALABRESE, E. J. Hormesis why it is important to toxicology and toxicologists. *Environmental Toxicology and Chemistry* n. 27, p. 1451-1474, 2008.
- CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. The dose determines the stimulation (and poison): development of a chemical hormesis database, *International Journal of Toxicology*, n.16, p. 545-559, 1997.

CALABRESE, E.J.; BALDWIN, L.A. Hormesis U-shaped dose responses and their centrality in toxicology. *Trends in Pharmacological Sciences*, 22, p. 285-291, 2001.

CALABRESE, E.J.; BALDWIN, L.A. The hormetic dose response model is more common than the threshold model in toxicology. *Toxicological Sciences*, n. 71, p. 246-250, 2003a.

CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Toxicological rethinks its central belief-hormesis demands a reappraisal of the way risks are assessed. *Nature*, n. 421, p. 691-692, 2003b.

CAMARGO, C. E. O.; FILHO, A. W. P. F.; NETO, A. T.; JUNIOR, A. P.; CASTRO, J. P.; FELICIO, J. C.; MISTRO, J. C.; SALOMON, M. V. Avaliação de linhagens de trigo originárias de hibridação com e sem irradiação gama, *Bragantia*, v. 64, p. 61-74, 2005.

CAMPO, T. A.; JÚNIOR, G. J. S.; SANTIAGO, D.; SILVA, L. P.; DA SILVA, R. M. G. Avaliação do potencial genotóxico de *Allium sativum* L. irradiado por meio do teste de micronúcleo em células meristemáticas de raiz de *Allium cepa*, resumo publicado em 60^a *Reunião Anual da SBPC*, 2008.

CANDEIA, R. A. **Biodiesel de soja: Síntese, Degradação e Misturas Binárias**. Tese de Doutorado – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

CARDOSO, E. M. **Aplicações da energia nuclear**, Apostila Educativa de Aplicações da Energia Nuclear, p. 03-09, 1999.

CARITÁ, R., MARIN-MORALES, M. A.,. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. *Chemosphere*, n.72, p. 722-725, 2008.

CASARETT, A.P.: Effects of radiation on higher plants and plant communities (a). *Radiation biology*. New Jersey: Prentice Hall. 368 p. Chapter 13, 1968.

CENTRO DE DESENVOLVIMENTO DA TECNOLOGIA NUCLEAR. **Fator sobre irradiação de alimentos – Série de fichas descritas do grupo consultivo internacional**

sobre irradiação de alimentos (ICGFI). Belo Horizonte: CDTN, 465p., 1999.

CHAUHAN, L. K. S.; SAXENA, P. N.; GUPTA, S. K. Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*, *Environ. Exp. Bot.*, v. 42, p. 181-189, 1999.

CHAUHAN, L. K. S.; SAXENA, P. N.; SUNDARARAMAN, V.; GUPTA, S. K. Diuron-induced cytological and ultrastructural alterations in the root meristem cells of *Allium cepa*, *Pest. Biochem. Physiol.*, v. 62, 152-163, 1998.

COSTA, N. P.; FRANÇA NETO, J. B.; PEREIRA, L. A. G.; HENNING, A. A. **Avaliação da qualidade da semente de soja produzida no Estado do Paraná.** Londrina: EMBRAPA-CPQSo, 13p., 1986.

CYPSEY JR; JOHNSON TE. Multiple stressor in *Caenorhabditis elegans* induce stress hormesis and extended longevity. *Exp Gerontol*, A 57; B109, B114, 2002

DAVIES, C. R. Effects of gamma irradiation on growth and yield of agricultural crops I. Spring sown wheat. *Radiation Botany*, v. 8, p.17-30, 1968.

DAVIES, C. R. Effects of gamma irradiation on growth and yield of agricultural crops II. Spring sown barley and other cereals. *Radiation Botany*, v. 10, p.19-27, 1970.

DAVIES, C. R. Effects of irradiation on growth and yield of agricultural crops III. Toot crops, legumes and grasses. *Radiation Botany*, v. 13, p. 127-36, 1973.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Londrina, PR). **Resultados de pesquisa de soja 2011/2012.** Londrina, 2013.

FAO. **Production Year Book, 50.** Washington: USDA – Economic Research Service, 1998.

FAOSTAT. **Statistical Data Base of the Food and Agriculture Organization**, United Nations. Disponível em <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault>. Acesso em 1 junho de 2016.

FELDMANN, A. Strahlenexposition und Strahlenwirkungen Teil I. Physik in unserer Zeit, WILEY-VCH Verlag GmbH. v. 17 n. 3, p. 80-87, 1986.

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. **Biodiesel de soja — Taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia.**

v.28 n.1, São Paulo Jan./Feb. 2005.

FERREIRA, R. L. F. **Avaliação de cultivares de alface sob doses de Silifertil®** Lavras: UFLA, 90p. Tese de Doutorado. 2004.

FISCHNICH, O.; PATZOLD, C.; HEILINGER, F. Influence of low doses of irradiation (X-rays and gamma rays of Cobalt-60) on potato seed. In: **INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY & FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATIONS**. Effects of ionizing radiations on seeds and their significance for crop improvement: proceedings of the synposium... held in Kaiisruche, 8-12 Aug. 1960. Vienna, 1961. p. 553-64, 1961.

FISKESJÖ, G. *Allium* test on copper in drinking water, **Vatten**, v. 37, p. 232-240, 1981.

FISKESJÖ, G. WANG, W., GORSUCH, J.W., HUGHES, J.S. (Eds.),. *Allium* test for screening chemicals evaluation of cytologic parameters. In: **Plants for Environmental Studies**. CRC Lewis Publishers Boca Raton, New York, 308-333, 1997.

FISKESJÖ, G.,. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas** 102, 99-112, 1985.

FREITAS, S. M. de. Biodiesel a base de soja é a melhor alternativa para o Brasil? **Informações Econômicas**, São Paulo, 2004.

FREITAS, V. H. S. **A importância da irradiação para conservação de alimentos**, Monografia apresentada ao curso politécnico em radiologia da Universidade Estácio de Sá, 2007.

FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. **Diacom: Diagnostico completo da qualidade da**

semente de soja. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 22p., 1992.

FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. **Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja.** Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 39p., 1984.

FRANÇA NETO, J. B.; PEREIRA, L. A. G.; COSTA, N.P.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja.** Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 58p., 1988.

FRANCO, S. S. H. **Interrelação de radiohormese e a incidência de insetos pragas na cultura de milho *Zea mays* L.** Tese Doutorado - Universidade de São Paulo, 1999.

FRANCO, C. H.; SILVA, R. M. G.; ARTUR, V.; FRANCO, S. S. H.; FRANCO J. G.. **Avaliação da germinação e desenvolvimento de lactuca sativa L. (asteraceae) provenientes de sementes irradiadas.** XXII Congresso de Iniciação Científica (Unesp) Assis/SP, p1179-1181, 2010.

GONZALEZ, L. M.; CHAVEZ, L.; RAMIREZ, R.; CAMEJO, Y. Rendimiento agrícola y calidad interna de los frutos en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) procedentes de semillas irradiadas con rayos X = Agricultural yield and internal quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Alimentaria*, n.339, p. 113-116, 2002.

GRANT, W. F. The present status of higher plant bioassays for detection of environmental mutagens, *Mutation Research*, v. 310, p. 175-185, 1994.

GRISOLIA, C. K, OLIVEIRA, A. B. B, BONFIM, H., KLAUTAU-GUIMARAES, M. N. Genotoxicity evaluation of domestic sewage in a municipal wastewater treatment plant. *Genetics and Molecular Biology* 28, 334-338. 2005.

IQBAL, J.; ZAHUR, M. S. Effects of acute gamma irradiation and developmental stages on growth and yield of rice plants. *Radiation Botany*, v. 15, p. 231-40, 1975.

HALL, E. J. **Radiobiology for the radiologist**. 4.ed. Philadelphia: J.B. Lippincott, 478p. 1994.

HAUT, J. **Zur Wirkung kleiner Strahlendosen: Hormesis und Adaptationsphänomene (Eine Literaturstudie)**. Tese de Doutorado, Instituto para Farmacologia, Toxicologia e Farmácia da Faculdade de Veterinária da Universidade de Munique, 1998.

HAY, J. R. Experiments on the mechanism of induced dormancy in wild oats, *Avena fatua* L. Can. **J. Bot.** v. 40, pp 191-202, 1962.

JENSEN, G. H. Toxic limits and stimulation effects of some salts and poisons on wheat. **Botanical Gazette** 43, pp 11-44, 1907.

JOSHI, M. M.; KHALATKAR A. S. Experimental mutagenesis in *Capsicum Annuum*: I Effect of different doses of gamma radiations on capsule and seed production. **Acta Hort.** (ISHS) 111, p. 55-62, 1981.

KAHAN, R. S. Accelerated and increased development of inflorescences in tomato plants from irradiated seeds. **Radiat. Bot.** v. 14, p. 257-262. 1974.

KARUNAKARAN, K.; KISS, I. S.; MIKAELSEN, K. Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays, fast neutrons and ethyl methane sulphonate in rice, **Technical Reports Series**, v. 131, p. 91-96, 1971.

KILLION, D. D.; CONSTANTIN, M. J. Gamma irradiation of com plants: effects of expose, exposed rate and developmental stage on survival, height and grain yield of two cultivars. **Radiation Botany**, Elmsford, v. 12, p. 159-164, 1972.

KIKUCHI, O. K. **Efeitos de baixas doses de radiação gama de Cobalto 60 sobre sementes de feijão, arroz e rabanete**. Tese de Mestrado - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1987.

KOMORI, E.; HAMAWAKITOT, O. T.; SOUZA, M. P.; SHIGIHARA, D.; BATISTA, M. Influência da época de semeadura e população de plantas sobre as características agronômicas

da cultura da soja. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 20, n. 3, p. 234-240, 2004.

KOVALCHUK, O.; KOVALCHUK, I.; ARKHIPOV, A.; TELYUK, P.; HOHN, B.; KOVALCHUK, L. The *Allium cepa* chromosome aberration test reliability measures genotoxicity of soils of inhabited areas in the Ukraine contaminated by the Chernobyl accident, *Mutation Research*., v.415, p. 47-57, 1998.

LEME, D. M., MARIN-MORALES, M. A., Chromosome aberration and micronucleus frequencies in *Allium cepa* cells exposed to petroleum polluted water - A case study. *Mutation Research*, v. 650, p. 80-86. 2008.

LEME, D. M.; MARIN-MORALES M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application, *Mutation Research*, v. 682, p. 71-81, 2009.

LIVINGSTON, G. K.; STETTLER, R. F. Radiation induced stimulation of pollen-tube elongation in Douglas fir. *Radiat. Bot*, v. 13, p. 65-72, 1973.

LOPES, K. **Efeito da Radiação Gama (Co⁶⁰) em sementes de soja *Glycine max* (L.) e em fungos micorrízicos para estimular o aumento de produção.** Trabalho de Graduação da Faculdade de Tecnologia de Piracicaba, Piracicaba, 2012.

LUCKEY, T. D. **Hormesis with Ionizing Radiation.** 222 p. CRC Press de Boca Raton. 1980.

MAHERCHANDANI, N. Effects of gamma radiation on the dormant seed of *Avena fatua* L. *Radiat. Bot.* v. 15, p. 439-443, 1975.

MARQUES, M. C.; HAMAWAKI, O. T. Avaliação do teor de óleo de cultivares de soja da UFU visando a produção de biodiesel. *Instituto de Ciências Agrárias* – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2002.

MIRANDA, H. L. C.; BOBROWSKI, V. L.; TILLMANN, M. A. A.; DODE, L. B.; MENEGHELLO, G. E. Qualidade fisiológica de sementes de arroz submetidas à radiação gama, *Ciência Rural*, v. 39, n. 05, 2009.

MIRANDA, M. A. C.; MASCARENHAS, H. A. **Soja: instruções agrícolas para o estado de São Paulo**. IAC, Campinas, p.193, 1986.

MONTI, L. M.; DONINI, B. Response to chronic gamma irradiation of twenty four Pea genotypes. *Radiat. Bot.*, v. 8, p. 473-487, 1968.

MOREIRA, M. A. Programa de melhoramento genético da qualidade de óleo e proteína da soja desenvolvidos na UFV. *Anais do Congresso Brasileiro de Soja*, Londrina, 1999.

MOUSSA, H. R. Gamma Irradiation Regulation of Nitrate Level in Rocket (*Eruca vesicaria* subsp. *sativa*) Plants. *Journal of New Seeds*, v. 8, n.1, p. 910-917, 2006.

NASCENTES, R. F. **Hormesis de glyphosate em cana-de-açúcar e eucalipto**. Dissertação de mestrado. Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP – Botucatu, 70 p., 2016.

NASCIMENTO, L. M. **Efeito da radiação gama nas propriedades físico-químicas e sensoriais de feijões (*Phaseolis vulgaris*) envelhecidos**. Tese de Doutorado – Faculdades de Ciências Farmacêuticas – USP, São Paulo, 135p., 1992.

NIEMANN, E. G.; BABOTH, E.; ZELLES, L.; EHRENBURG, L.; FEDORCSAK, I.; FENDRIK, I. **Low level radiation effects on plants, Biochemical aspects of radiation stimulation**. Biological and environmental effects of low level radiation, Vol. I IAEA, p. 141-146, 1976.

OKAZAKI, K. **Efeitos das radiações ionizantes em células, noções básicas**. IPEN, Publicação 399. 20 p. 1995.

OKUNO, E.; CALDAS, I. L.; CHOW, C. **Física para ciências biológicas e biomédicas**. 1986.

OLIVEIRA, M. C. N.; MANDARINO, J. M. G.; VAL, W. M. C. Fatores que afetam a variabilidade porcentual dos teores de óleo e proteína em soja. Londrina: **EMBRAPA-CNPSO**, 4p., 1992.

PAL, I.; PANNONHALMI, K.; MAUL, F. Report on the red radish phytotron experiments coordinated by ESNA at Godollo, Hungary, *Stim. Newsl.*, 9, 39, 1976.

PANERO, J. S. **Determinação de proteína, óleo e umidade por espectroscopia NIR em grãos de soja no Estado de Roraima**. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Roraima, 2007.

PANOZZO, L. E.; SCHUCH, O. B.; PESKE, S. T.; MIELEZRSK, F.; PESKE, F. B. Comportamento de plantas de soja originadas de sementes de diferentes níveis de qualidade fisiológica. *Revista da FZVA*. Uruguaiana, v.16, n.1, p.145-50, 2009.

PARAISO, P. R. **Modelagem e análise do Processo de Obtenção do Óleo de Soja**. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 220p., 2001.

PREISS, J. W.; KLEIN, S. Depth Controlled Deuteron Irradiation of *Lactuca sativa* Seeds, *Plant Physiology*, v. 33, p. 326-339, 1958.

RANK, J.; JENSEN A. G.; SKOV, B.; PEDERSEN, L. H.; JENSEN, K. Genotoxicity testing of the herbicide Roundup and its active ingredient glyphosate isopropylamine using the mouse bone marrow micronucleus test, *Salmonella* mutagenicity test, and *Allium cepa* anaphase-telophase test, *Mutation Research*, v. 300, p. 29-36, 1993.

RANK, J.; NIELSEN, M. H. Genotoxicity testing of wastewater sludge using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay, *Mutation Research*, v. 418, p. 113-119, 1998.

RANK, J. The method of *Allium* anaphase-telophase chromosome aberration assay, *Ekologija*, p. 38-42, 2003.

RODRIGUES, O.; DIDONET, A. D.; LHAMBY, J. C. B.; BERTAGNOLLI, P., F.; LUZ, J. S. Resposta quantitativa do florescimento da soja à temperatura e ao fotoperíodo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.36, n.3, 2001.

SAGAN, L. A. What is hormesis and why we haven't heard about that before? *Health Phys.* 52, p. 521-525, 1987.

SAGAN, L. A. What is hormesis and why we haven't heard about that before. pg 325, 1991.

SAGHIRZADEH, M.; GHARAATI, M. R.; MOHAMMADI, Sh.; GHIASSI-NEJAD, M. Evaluation of DNA damage in the root cells of *Allium cepa* seeds growing in soil of high background radiation areas of Ramsar – Iran, *Journal of Environmental Radioactivity*, v. 99, p. 1698-1702, 2008.

SAVIN, V. N.; SHUTOV A. A. Gamma irradiation influence on bushing and growth of side sprouts of some agricultural plants. *Radiobiology*, 5, 770 NSA 20:6873, 1965.

SEREBRENIKOV, V. S. Effect of ionizing radiation on plants, *Biol. Shk.*, 2, 74, NSA 21: 437, 1965.

SHAMJI S. R. A.; SOFAJY, S. A. Effects of low doses of gamma radiation on the growth and yield of two cultivars of broad bean. *Environ Exp. Bot.* v. 20, p. 87-94, 1980.

SIDRAK G.H.; SUESS, A. Effects of low doses of gamma radiation on the growth and yield of two varieties of tomato. *Radiat. Bot.*, v. 13, p. 309-14, 1973.

SMUTKUPT, S.; WONGPIYASATID, A.; LAMSEEJAN, S. Soybean mutants induced by gamma radiation. *Environ. Mutagen.*, v.7, supl.3, p.41, 1985.

STAN, S.; CROITORU, A. Effects of low, moderate and high levels of gamma radiations (Co-60) on soybean plants, I. Analysis of growth and yield, *Stim. Newsl.*, 1, 23, 1970.

STAN, S.; CROITORU, A. Effects of low, moderate and high levels of gamma radiations (Co-60) on soybean plants, II. Changes in protein, oil and micronutrient content, *Stim. Newsl.*, 2, 11, 1971.

STAN, S.; JINGA, A. The effect of low gamma ray doses of Co-60 on bean and soybean plants. *Ann. Inst. Cercet. Pentru, Cereale Plante The. Fundulea*, 34, 369; NSA 23:20427, 1966.

SÜSS, A. Effect of low doses of seed irradiation on plant growth. In: INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Effects of low doses of radiation on crop plant. **Technical reports series**, 64, Vienna, p. 1-11, 1966.

TAUTZ, M. **Was ist hormesis?** Moderne Röntgen Fotografie. ORWO 4, p. 15-23, 1990.

THAKUR, B. R. SINGH, R. K. **Food irradiation – Chemistry and applications.** *Food reviews International*, New York, v.10, p. 437-473, 1994.

VELLO, N. A. Ampliação da base genética do germoplasma e melhoramento da soja na ESALQ/USP. **SIMPOSIO SOBRE A CULTURA E PRODUTIVIDADE DA SOJA**, Piracicaba. *Anais*, p. 60-81, 1991.

VOLOOZH, D.; ZHAMYANSUREN, D. Effect of γ radiation of presown seeds on the crop yield and productivity of open ground tomatoes under the conditions of the Mongolian Peoples Republic. *Atomnaya Energiya*, Vol. 41, n.2, p.149-151, 1976.

WENNERSTEN, R.; YDBERG, J.; MUSIKAS, C.; CHOPPIN, G.R. **Principles and practices of solvent extraction.** New York: Marcel Dekker, p.115-356, 1992.

WIEDMAN, S. J.; APPLEBY, A. P. Plant Growth Stimulation By Sublethal Concentrations Of Herbicides. *Weed Research*, v. 12, n. 1, p. 65-74, 1972.

WIENDL, T. A. **Efeitos de baixas doses de radiação gama do Co-60 (Radio-hormesis) em sementes de tomate.** Tese Doutorado - Universidade de São Paulo, 2010.

WIENDL, F. M. ; WIENDL, F. W. ; WIENDL, J. A. ; ARTHUR, V. Increase of onion yield through low dose of gamma irradiation of its seeds. *Radiation Physics and Chemistry*, Great Britain, v. 46, n. 4-6, p. 793-795, 1995.

WIENDL, F. M. Radiohormesis em beterrabas vermelhas *Beta vulgaris* (L.). In: **II Encontro Nacional de Aplicações Nucleares**, Caxambu, MG, pp. 25-29, Outubro 1993.

WHO – World Health Organization. **Safety and nutritional adequacy of irradiated food**, p.1-17, Geneva, 1994.

WOODHAM, C. H.; BEDFORD, E. J. S. On the Nature of Growth Stimulation of *Vicia Faba* Roots during Irradiation at Low Dose-rates. Int. *J. Radiat. Biol.* v. 18, No. 6, p. 501-505, 1970.

WOODSTOCK, L. W.; JUSTICE, O. L. Radiation induced changes in respiration of corn, wheat, sorghum and radish seeds during initial stages of germination in relation to subsequent seedling growth. *Radiat. Bot.* v. 7, 129-136, 1967.

ZANON, G. D. **Teor de proteína e de óleo em grãos de soja obtidos sobre diferentes tipos de manejo.** Tese de Doutorado - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2007.

ANEXOS

ANEXO 1 – Resultado da análise das sementes irradiadas

SOLICITANTE: JOSE GILMAR FRANCO

IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA: SEMENTE DE SOJA

DATA DE ENTRADA: 16/12/2013

DATA DA SAÍDA: 16/01/2014

MATERIAL: SEMENTE

Nº LABORATÓRIO: 0079 À 0087122013

Resultado de Análise de Semente

CULTIVAR	RADIAÇÃO	GERMINAÇÃO (%)	VIGOR (%)
*	75 GY – 283 GY / L	94,00	80,00
*	100 GY – 283 GY / L	94,00	80,00
*	125 GY – 283 GY / L	92,00	82,00
*	150 GY – 283 GY / L	94,00	86,00
*	0 TEST. GY – 283 GY / L	96,00	86,00
*	75 GY – 146,94 GY / L	96,00	84,00
*	100 GY – 146,94 GY / L	96,00	80,00
*	125 GY – 146,94 GY / L	96,00	84,00
*	150 GY – 146,94 GY / L	90,00	76,00

Observações:

- Metodologia segundo as Regras para Análise de Sementes do Ministério da Agricultura e Reforma Agrária.
- Este resultado refere-se apenas à amostra analisada, sendo que sua representatividade e fidedignidade são de inteira responsabilidade do interessado, que efetuou a amostragem e enviou ao laboratório.
- * Não informado.

 Patrícia Cavani Martins de Mello
 Responsável Técnica
 CRQ 4453319 – IV Região

Laboratório cadastrado no Ministério da Agricultura e Reforma Agrária - DFARA/SP - SP 01290-4
 Av. Getúlio Vargas, 1200 - Vila Nova Santana - Fone/Fax (18) 3302-1058 - Assis - SP - 19807-634
 Serviço de Atendimento ao Consumidor: cepec@femanet.com.br

ANEXO 2 – Resultado da análise de solo do experimento no campo

NÃO CONVENIADOS
AV. ANTONIO JOSÉ DE CARVALHO, 415
19.808-020 - Assis - SP

Proprietário: SÉRGIO MARCUSO E OUTRO
Propriedade: SÍTIO RECANTO
Valor: R\$ 18,00

Recebimento: 11/09/2014
Cidade: Palmital
Material: SOLO

[illegible][illegible]

Quim. Jefferson Machado Zardetto
CRQ 04162819 IV Reg.

Anexo 3 – Roteiro Fotográfico

Semeadura do experimento no campo

Emergência das plantas

desenvolvimento vegetativo

fase reprodutiva (formação de vagem e
enchimento dos grãos)

fase da colheita

emergência das plantas em vasos na estufa

Alterações com mal formação das vagens causadas por altas doses (150 Gy)