

DANÚBIA APARECIDA COSTA NOBRE

**MUTAÇÃO POR RADIAÇÃO GAMA EM SOJA: CARACTERÍSTICAS
AGRONÔMICAS, TEORES DE ÓLEO E DE PROTEÍNA E QUALIDADE DE
SEMENTES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2016

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

N754m
2016 Nobre, Danúbia Aparecida Costa, 1982-
Mutação por radiação gama em soja : características
agronômicas, teores de óleo e de proteína e qualidade de
sementes / Danúbia Aparecida Costa Nobre. - Viçosa, MG,
2016.
vi, 48f. : il. ; 29 cm.

Orientador : Carlos Sigueyuki Sedyama.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Soja. 2. *Glycine max*, Soja - Efeito dos raios gamas.
3. Sementes - Germinação. 4. Sementes - Vigor. 5. Proteínas.
6.  leo. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Fitotecnia. Programa de Pós-graduação em Fitotecnia.
II. Título.

CDD 22. ed. 633.34

DANÚBIA APARECIDA COSTA NOBRE

**MUTAÇÃO POR RADIAÇÃO GAMA EM SOJA: CARACTERÍSTICAS
AGRONÔMICAS, TEORES DE ÓLEO E DE PROTEÍNA E QUALIDADE DE
SEMENTES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

APROVADA: 17 de fevereiro de 2016.

Cândido Alves da Costa

Tocio Sedyama

Felipe Lopes da Silva

Cleberson Ribeiro

Carlos Sigueyuki Sedyama
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Deus, por tornar mais um sonho possível.

À minha família, pela colaboração, apoio e oração. Em especial, ao meu pai e à minha mãe, Gentil Nobre e Maria de Fátima; vovó Nena; meus irmãos, Arley e Eduardo; minha cunhada Aline. À minha querida sobrinha Alana, que tem nos proporcionado momentos de tanta alegria. Ao Zenilton, pelo amor, dedicação, colaboração e compreensão, por muitas vezes que me distanciei pelos estudos.

Ao professor Carlos Siguelyuki Sedyama, pela orientação, ensinamento e confiança, em tão pouco tempo de convívio.

Ao professor Valter Arthur (CENA/USP) e ao pesquisador Newton Deniz Piovesan (BIOAGRO/UFV), pelo apoio e conhecimento disponibilizados nesta pesquisa.

Aos professores da UFV, pelos ensinamentos, em especial ao Eduardo Fontes, Felipe Lopes e Tocio Sedyama, pela colaboração intelectual no exame de qualificação.

Ao professor Kent Bradford, Alfred Huo, Pedro Bello e demais amigos da University of California-Davis, pela orientação, apoio e amizade no Doutorado Sanduíche.

Aos funcionários da UFV e do Departamento de Fitotecnia, em especial à Tatiani Gouvêa, aos colaboradores no campo e laboratório: Paulo Paiva e sua equipe, Paulo Daniel (in memoriam), Bernardino, José Custódio, Martha e do Bioagro, José Carlos e Reginaldo.

Aos amigos e estagiários do Laboratório de Melhoramento de Soja e Oleaginosas, à valorosa contribuição nas montagens, conduções e avaliações dos experimentos.

Aos amigos da pós-graduação, em especial: Daniele Rosa, Francisco Charles, André Ricardo, Amilton Ferreira, Emerson Trogello, Alejandro Salazar e João Filipe, pelas inesquecíveis horas de estudo e pelos bons momentos vividos dentro e fora da Universidade. Às companheiras de república e aos amigos externos à UFV, que possibilitaram momentos de descontração e muita alegria.

Às instituições: Unimontes, Epamig, Emater, UFMG, UFV e UCDavis, pilares do meu conhecimento.

Ao CNPq e à Capes pela concessão das bolsas de estudo.

E a todos aqueles que não foram aqui citados, mas, com certeza, tiveram a sua importância!

BIOGRAFIA

DANÚBIA APARECIDA COSTA NOBRE, filha de Gentil Alvino Nobre e Maria de Fátima Costa Nobre, nasceu no dia 22 de março de 1982, em Montes Claros, Estado de Minas Gerais, onde concluiu o ensino fundamental e médio. Em 2005, iniciou o curso de graduação em Agronomia, na Universidade Estadual de Montes Claros - Campus Janaúba. Finalizando-o em julho de 2010. No mês seguinte, ingressou-se no Mestrado, do Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, recebendo o título em fevereiro de 2012. Em março do mesmo ano, ingressou-se no Doutorado do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, da Universidade Federal de Viçosa, com período Sanduíche, no ano de 2014/15, na University of California, Davis - EUA.

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
INTRODUÇÃO GERAL	1
Referências	3
ARTIGO 1 - Identificação de variabilidade e presumíveis mutantes por meio de irradiação gama em sementes de soja	5
Resumo	5
Abstract	6
Introdução	7
Material e Métodos	8
Resultados e Discussão	9
Conclusões	27
Agradecimentos	27
Referências	27
ARTIGO 2 - Radiação gama e armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de soja	31
Resumo	31
Abstract	31
Introdução	32
Material e Métodos	33
Resultados e Discussão	35
Conclusões	44
Agradecimentos	44
Referências	44
CONCLUSÕES GERAIS	48

RESUMO

NOBRE, Danúbia Aparecida Costa, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2016. **Mutação por radiação gama em soja: características agronômicas, teores de óleo e de proteína e qualidade de sementes.** Orientador: Carlos Sigueyuki Sedyama.

A soja (*Glycine max* L. Merrill) destaca-se pela sua utilização como alimento a humanos e animais. Para atender às exigências de melhor aproveitamento dessa cultura, são necessárias constantes pesquisas. Em vista disso, este estudo foi realizado para avaliar diferentes doses de radiação gama em sementes, visando aumentar a variabilidade genética de duas linhagens de soja e, com isso, aumentar as chances de se identificarem novos mutantes, assim como avaliar o efeito das doses e do tempo de armazenamento na qualidade fisiológica das sementes. Sementes secas de duas linhagens de soja (VX04-6828 e VX04-5692) foram irradiadas com doses de 0, 50, 150 e 250 Gy de radiação gama (^{60}Co). Em seguida, foram semeadas para produzirem plantas no ciclo M1. De cada linhagem, foram selecionadas plantas com melhor aspecto agrônômico e semeadas no sistema fileira-por-planta, no ano agrícola seguinte, produzindo as plantas do ciclo M2. Dez plantas de cada fileira foram identificadas e avaliadas quanto a várias características agronômicas e quanto aos teores de óleo e de proteína. Em experimento adicional, sementes da geração M1 foram armazenadas em condições laboratoriais e avaliadas aos 0, 2, 4 e 6 meses, quanto à qualidade fisiológica. O uso de radiação gama aumentou a variabilidade em linhagens de soja, com conseqüente aumento das probabilidades de identificação de novos mutantes, úteis a programas de melhoramento que visam melhor desempenho agrônômico e ganhos nos teores de óleo e de proteína. Resultados mais satisfatórios na geração de variabilidade são obtidos pela aplicação de doses de radiação gama entre 50 e 150 Gy. A linhagem VX04-5692 apresentou maior sensibilidade à radiação gama, no aumento da variabilidade genética. A melhor qualidade fisiológica das sementes de soja na geração M1 foi expressa em doses inferiores a 100 Gy e até 2 meses de armazenamento. O aumento de doses de radiação gama, juntamente com o aumento do período de armazenamento, após o primeiro ciclo de produção, reduz a qualidade fisiológica de sementes de soja.

ABSTRACT

NOBRE, Danúbia Aparecida Costa, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2016. **Mutation through gamma radiation in soybean: agronomic traits, oil and protein content and seeds quality** . Advisor: Carlos Siqueyuki Sedyama.

Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) stands out for meeting the needs of food and feed. Constant research is necessary to meet the requirements to better crop use. Therefore, this study was conducted to evaluate different doses of gamma radiation on seeds, to increase the genetic variability of two soybean lines and thereby increase the chances of identifying new mutants, as well as assess the effect of doses and storage time on the seeds physiological quality. Dry seeds of two soybean lines (VX04-6828 and VX04-5692) were irradiated with doses of 0, 50, 150 and 250 Gy of gamma radiation (^{60}Co) and then they were sown to produce M1 cycle plants. The better agronomic performance plants to each line were selected and their seeds were sown in row-by-plant system, producing M2 cycle plants. Ten plants in each row were identified and their agronomic traits and oil and protein in the seeds were evaluated. In an additional assay, M1 seeds were stored in laboratory condition and their physiological quality was evaluated after 0, 2, 4 and 6 months. The gamma radiation use increased the soybean lines variability, with consequent increase in the probability of identifying new mutants. The better results were obtained through applying doses of 50 and 150 Gy of gamma radiation. VX04-5692 line is more sensitive to gamma radiation, in increasing the genetic variability. The best physiological quality of soybean seeds in the M1 generation was observed on doses lower than 100 Gy and up to two storage months. Increasing gamma radiation doses and storage period, after the first production cycle, reduced the soybean seeds physiological quality.

INTRODUÇÃO GERAL

A soja é uma das principais oleaginosas do mundo e se destaca como a commodity que melhor atende à demanda para a alimentação humana e animal. Seu preço é determinado pela negociação nas principais bolsas de mercadoria. A soja pertence ao reino Plantae, divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Fabales, família Fabaceae (Leguminosae), subfamília Faboideae (Papilionoideae), gênero Glycine, espécie Glycine max (L.) Merrill. É originada de clima temperado, apresenta-se com ampla adaptação em ambientes subtropicais e tropicais, exibe boa aceitação e apresenta inúmeras utilidades. É uma cultura anual, geralmente de porte ereto, ramificada e com crescimento arbustivo (Sediyama et al., 2009; 2016).

A oleaginosa é a principal responsável pelo aumento de área plantada no Brasil. A produção é liderada pelos estados do Mato Grosso, Paraná, Rio Grande do Sul e Goiás, com evolução da produção para novas áreas no Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia. Para o ano agrícola 2015/16, o cultivo de soja aponta estimativa de 36.228 mil hectares de área plantada e produção de 102.110,5 mil toneladas, representando incremento de 5,8% em relação à safra anterior (Conab, 2016).

A cultura da soja direciona-se para a produção de grãos, os quais exibem elevados teores de óleo (18 a 22%) e de proteína (38 a 42%), importantes para a alimentação humana, e ainda apresentam diversas propriedades funcionais, com destaque para as isoflavonas, em especial a genisteína, que possui potencial efeito inibidor do crescimento de células e de várias enzimas envolvidas em processos de carcinogênese (Barnes, 1995; Oliveira et al., 2013). Para Silva et al. (2010), a preservação das características nutricionais e a inativação de fatores antinutricionais da soja podem otimizar ainda mais o seu uso na alimentação humana.

Para a alimentação animal, conforme Gobetti et al. (2011), o uso de silagem de soja é interessante do ponto de vista nutricional, pois apresenta valores satisfatórios para a suplementação das rações, embora, pouco ainda se discuta sobre o uso da planta inteira como ração animal.

Devido à ampla utilização da soja e seus coprodutos, é alta a demanda de cultivares que reúnam todas as características favoráveis à comercialização dessa

cultura. Portanto, para que os programas de melhoramento genético da soja tenham sucesso, é importante que haja variabilidade genética.

A variabilidade genética ocorre naturalmente de maneira espontânea e aleatória, por meio de mutações, ou seja, das modificações na estrutura do ácido desoxirribonucleico (DNA). Todavia, na natureza ocorrem com frequência relativamente baixa e são de difícil identificação, além de a maioria ser deletéria (Ahloowalia e Muluszynski, 2001; Brock, 1971). Desse modo, a indução de mutações por agentes mutagênicos químicos ou físicos têm sido utilizada para alcançar estas modificações na estrutura do DNA (Borém e Miranda, 2013).

Há evidências experimentais que apontam os agentes físicos como sendo os mais eficientes na obtenção de mutantes (Borém, 2001). Em cultivares de soja, Tulmann Neto et al. (1995) selecionaram plantas mais precoces por meio de mutação. Igualmente, Stan e Croitoru (1970) relatam estímulo na germinação, florescimento, maturação precoce e aumento na produção, após o uso de raios gama em sementes de soja, bem como aumento na quantidade de proteínas.

Além das estratégias para favorecer o melhoramento da cultura, a radiação gama pode afetar a germinação e o vigor das sementes, aumentar o tempo de vida útil dos alimentos, promover a desinfecção de patógenos prejudiciais à germinação e inativação de microrganismos causadores de degradação (Santos et al., 2010; Alves et al., 2011). Para Dixit et al. (2011), a radiação gama tem efeito adverso sobre os fatores antinutricionais de sementes de soja, resultando em diminuição de isoenzimas lipoxigenases, inibidor de tripsina, oligossacarídeos derivados de rafinose, bem como sobre o teor de ácido ascórbico.

Sendo a soja uma cultura introduzida no Brasil, os trabalhos genéticos que visam a constante melhoria dos cultivares, aumentam a chance de perda da variabilidade, havendo, portanto a necessidade de aumentar a base genética da soja, evitando-se a vulnerabilidade genética do germoplasma (Hiromoto e Vello, 1986).

Caracteres promissores nos mutantes poderão, ainda, apresentar contribuição significativa para os produtores de soja, os quais poderão contar com cultivares melhorados que incorporam novos alelos de interesse agrônômico, aptos a promover ainda mais o potencial produtivo da cultura e/ou apresentar caracteres de interesse diferenciado, voltado à nutrição humana ou animal, com possíveis

incrementos na produção e produtividade de grãos e melhoria na qualidade fisiológica e nutricional das sementes. Dessa forma, o uso de radiação gama pode se constituir em estratégia interessante para permitir rapidez e eficiência no alcance de novos genótipos.

Nesse sentido, objetivou-se avaliar diferentes doses de radiação gama visando aumentar a variabilidade genética em sementes de duas linhagens de soja e aumentar as chances de se identificarem presumíveis mutantes, assim como avaliar o efeito das doses de radiação gama e do tempo de armazenamento na qualidade fisiológica das sementes de soja.

REFERÊNCIAS

- AHLOOWALIA, B. S.; MALUSZYNSKI, M. Induced mutations: A new paradigm in plant breeding. **Euphytica**, v.118, p.167-173, 2001.
- ALVES, N.M.C.; ALMEIDA, F.A.C.; GOMES, J.P.; LEAL, A.S.C.; SILVA, M.M. Viabilidade e micoflora de sementes de amendoim irradiadas com cobalto (^{60}Co). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.15, n.3, p.289-295, 2011.
- BARNES, S. Effect of genistein on in vitro and in vivo models. **The Journal of Nutrition**, p.777-783. 1995.
- BORÉM, A. **Melhoramento de Plantas**. 3 ed. Viçosa: UFV, 2001. 500 p.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G.V. **Melhoramento de Plantas**. 4 ed. Viçosa: UFV, 2005. 525 p.
- BROCK, R.D. The role of induced mutations in plant improvement. **Radiation Botany**, v.11, p.181-196, 1971.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos - Safra 2015/16: quarto levantamento**. Brasília, v.4, p.1-154, 2016.
- DIXIT, A.K.; KUMAR, V.; RANI, A.; MANJAYA, J.G.; BHATNAGAR, D. Effect of gamma irradiation on lipoxygenases, trypsininhibitor, raffinose family oligosaccharides and nutritional factors of different seed coat colored soybean (*Glycine max L.*). **Radiation Physics and Chemistry**, v.80, p.597-603, 2011.

- GOBETTI, S.T.C.; NEUMANN, M.; OLIVEIRA, M.R.; OLIBONI, R. Produção e utilização da silagem de planta inteira de soja (*Glycine max* L.) para ruminantes. **Ambiência**, v.7, n.3, p.603-616, 2011.
- HIROMOTO, D.M.; VELLO, N.A. The genetic base of Brazilian Soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivars. **Revista Brasileira de Genética**, v.9, n.2, p.295-306. 1986.
- MIRANDA, H.L.C.; BOBROWSK, 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.5, p.1320-1326, 2009.
- OLIVEIRA, R.C.T.; SEDIYAMA, T.; SEDIYAMA, H.A.; NOGUEIRA, A.P.O. Composição Química. In: SEDIYAMA, T. (ed). **Tecnologia de produção de sementes de soja**. Editora Mecenas, Londrina, 2013. p.73-87.
- STAN, S.; CROITORU, A. Effects of low, moderate and high levels of gamma radiations (^{60}Co) on soybean plants, I. **Analysis of growth and yield**, v.1, p.23, 1970.
- SANTOS, T.S.; ALMEIDA, F.A.C.; SUASSUNA, T.M.F.; COUTINHO, W.M.; ALMEIDA, P.B.A. Resposta de sementes de amendoim a diferentes doses de radiação gama (^{60}Co). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, n.10, p.1074–1078, 2010.
- SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R.C.; BARROS, H.B. **Tecnologias de produção e usos da soja**. 1ed. Londrina: Mecenas. 2009, 314p.
- SEDIYAMA, T.; OLIVEIRA, R.C.T.; SEDIYAMA, H.A. A soja. In: SEDIYAMA, T. **Produtividade da soja**. 1ed. Londrina: Mecenas, 2016. p.11-18.
- SILVA, C.O.; ANDRADE, G.F.; DANTAS, M.I.S.; COSTA, N.M.B.; PELUZIO, M.C.G.; FONTES, E.A.F.; MARTINO, H.S.D. Influência do processamento na qualidade proteica de novos cultivares de soja destinados à alimentação humana. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.23, n.3, p.389-397, 2010.
- TULMANN NETO, A.; PEIXOTO, T.; ALVES, M.C.; OLIVEIRA, J.C.V.; MENTEN, J.O.M.; ATHAYDE, M. Indução de mutação na cultivar de soja IAC-8 visando à obtenção de precocidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, n.2, p.237-244, 1995.

ARTIGO 1

Identificação de variabilidade e presumíveis mutantes por meio de irradiação gama em sementes de soja

RESUMO - O aumento da variabilidade genética pelo surgimento de novos genes de interesse agrônômico pode ser favorecido pelo uso de radiação gama. Neste sentido, objetivou-se avaliar diferentes doses de irradiação gama em sementes de duas linhagens de soja, VX04-6828 e VX04-5692, visando o aumento da variabilidade genética e, com isso, a identificação de possíveis plantas mutantes. Foram aplicadas as doses de 0, 50, 150 e 250 Gy de radiação gama, provenientes de uma fonte de ^{60}Co . As sementes recém irradiadas foram semeadas no campo, originando o ciclo M1. Plantas selecionadas originaram o ciclo M2. Contou-se o número de plântulas no 21º dia após a semeadura. Foram identificadas 10 plantas de cada linha, avaliando-se a altura da planta na floração plena e na maturação, a altura de inserção da primeira vagem, o número de nós da planta, de sementes/planta, de sementes/vagem, de vagens/planta, de vagens com uma, duas, três ou quatro sementes, de vagens chochas, e o peso de cem sementes, bem como os teores de proteína e óleo das sementes. Os dados foram submetidos à análise de variância para cada linhagem. Aplicou-se o teste F e os resultados foram apresentados por boxplots. Não houve significância de doses de radiação em qualquer característica avaliada na linhagem VX04-6828. Na linhagem VX04-5692, houve efeito de doses de radiação gama na altura de planta na floração plena e na maturação, no número de nós, de vagens com uma semente e de sementes por vagem. O uso de radiação gama aumenta a variabilidade em linhagens de soja, com consequente aumento das probabilidades de identificação de novos mutantes, úteis a programas de melhoramento que visam melhor desempenho agrônômico e ganhos nos teores de óleo e de proteína. Resultados mais satisfatórios na geração de variabilidade são obtidos pela aplicação de doses de radiação gama em sementes secas de soja entre 50 e 150 Gy. A linhagem VX04-5692 apresenta maior sensibilidade à radiação gama, quanto ao aumento da variabilidade genética.

Palavras-chave - Glycine max, radiação ionizante, caracteres agrônômicos, mutação.

Identification of variability and presumptive mutants using gamma irradiation in soybean seeds

ABSTRACT - Higher variability due the emergence of new genes of agronomic interest may be favored through the use of gamma radiation. Therefore, the objective of this study was to evaluate different doses of gamma irradiation from seeds of two soybean lines, VX04-6828 and VX04-5692, to increase the genetic variability and, consequently, the identification of possible mutant plants. Doses of 0, 50, 150 and 250 Gy of gamma radiation from a ^{60}Co source were applied. The newly irradiated seeds were sown in field to generate M1 plants. Selected plants originated the M2 cycle. The number of emerged seedlings were evaluated 21 days after sowing. Ten plants of each line were identified for measurements of plant height on flowering and on maturity, height of first pod insertion, number of nodes per plant, seeds per plant, seeds per pod, pods per plant, pods with one, two, three or four seeds, empty pods, weight of one hundred seeds, and seed protein and oil content. Data were subjected to analysis of variance for each soybean line. The F test was applied and the results were presented by boxplots. There were no detectable radiation effects on the traits of VX04-6828 line. The effect of gamma radiation doses, on VX04-5692 line, was observed on plant height on flowering and on maturation, on number of nodes, number of pods with one seed and on number of seeds per pod. The use of gamma radiation increases the variability in soybean lines, with consequent increase of the probability of identification of new mutants, useful to breeding programs aimed at better agronomic performance and gains in oil and protein contents. The better results in the generation of variability were obtained through applying doses of gamma radiation in dry soybean seeds between 50 and 150 Gy. The VX04-5692 line is more sensitive to gamma radiation, in increasing the genetic variability.

Keywords - Glycine max, ionizing radiation, agronomic traits, mutation.

INTRODUÇÃO

Constituindo-se em uma das principais oleaginosas do mundo, a soja apresenta sementes com elevados teores de proteína (37 a 42%) e de óleo (17 a 22%), além de diversas propriedades funcionais, com destaque para as isoflavonas, que possuem potencial efeito inibidor do crescimento de células e de várias enzimas envolvidas em processos de carcinogênese; a planta de soja pode ser utilizada como forragem, feno e pastagem (Barnes, 1995; Oliveira et al., 2013, Sedyama, 2016).

Diante da ampla utilização da soja e de seus coprodutos, os programas de melhoramento genético dessa cultura procuram produzir cultivares que reúnem o maior número de caracteres favoráveis. O sucesso desse trabalho depende fundamentalmente da variabilidade genética e o uso de mutagênicos, dentre eles os raios gama, oferece grandes possibilidades para o aumento da variabilidade genética de caracteres qualitativos e quantitativos, tais como o rendimento (Jan et al., 2012; Ramchander et al., 2015).

Importantes para a evolução de uma espécie, as mutações genéticas dependem ainda da sobrevivência do indivíduo e da estabilidade do seu genoma, que resulta não só de um acurado mecanismo de replicação, mas também de mecanismos de reparo dos danos que ocorrem continuamente na estrutura do DNA (Costa et al., 2001; Morita et al., 2010).

Tulmann Neto et al. (1995) e Coimbra et al. (2005) sugerem a técnica das mutações induzidas como alternativa atraente para o melhoramento da soja, a qual tem contribuído de forma significativa para o melhoramento de plantas, com a criação e incorporação de novos genes de interesse agrônômico.

A frequência natural das mutações é cerca de 10^{-6} por geração, mas pode ocorrer aumento, quando o material genético é submetido ao uso de agentes químicos ou físicos, atingindo a ordem de 10^{-3} . A frequência de mutações é proporcional, ainda, à dose de raios gama utilizados (Borém e Miranda, 2013).

Diante do exposto, realizou-se o presente estudo no intuito de aumentar a variabilidade genética em sementes de duas linhagens de soja, identificar as melhores doses de irradiação gama e aumentar as chances de identificação de presumíveis mutantes.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de duas linhagens de soja, VX04-6828 e VX04-5692, em fase final do programa de melhoramento, com teor de água de aproximadamente 12,0%, foram irradiadas com doses de 0 (controle), 50, 150 e 250 Gy de radiação gama, provenientes de uma fonte de ^{60}Co , tipo Gammacell-220, sob taxa de dose de 0,312 kGy/h, instalada no Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA/USP, Piracicaba, SP.

Em dezembro do ano agrícola 2012/2013, sementes irradiadas foram semeadas no Campo Experimental “Diogo Alves de Mello”, em Viçosa, MG, situada a 20° 46’ de latitude sul, 42° 52’ de longitude oeste e 648 m de altitude. O solo da área de estudo é classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo (PVA), de textura argilosa. Foi aplicado no sulco de plantio o fertilizante formulado 08-28-16, na dose de 300 kg ha⁻¹. A semeadura foi realizada no delineamento em blocos casualizados, com três repetições, cada parcela foi constituída de uma fileira de 20 metros, com 15 sementes por metro, totalizando 300 sementes de cada tratamento de irradiação e linhagem, as quais deram origem às plantas do ciclo M1 (geração M1, que produz sementes M2). O manejo e os tratos culturais foram realizados de acordo com a exigência da cultura.

Contabilizou-se o número diário de plântulas normais emergidas (cotilédones formando um ângulo de 90°), até o 21° dia após a semeadura. Desse plantio, foram identificadas 90 plantas M1 por fileira, sobre as quais foram realizadas avaliações das características agrônômicas. Destas, foram selecionadas 72 plantas de cada tratamento e linhagem com melhores desempenhos agrônômicos, para condução da geração M2.

No ano agrícola 2013/2014, em novembro, trinta sementes M2, provenientes de cada uma das 72 plantas de cada tratamento e linhagem do ano agrícola anterior, foram semeadas, em fileiras de 2 metros cada, espaçadas em 0,70 cm, em três blocos casualizados. Foram realizadas contagens diárias das plântulas emergidas, até o 21° dia após a semeadura, realizando-se, ainda, a identificação de plantas cloróticas e, em seguida, realizou-se o desbaste, mantendo 20 plantas por linha.

Foram identificadas 10 plantas de cada linha, totalizando 720 plantas de cada linhagem, as quais foram avaliadas, individualmente, quanto ao seu desempenho agrônomico por meio das seguintes características: Altura da planta na floração plena: determinada do solo ao ápice da haste principal, em centímetros; altura da inserção da primeira vagem e altura de plantas na maturação (R8): determinada do solo até a inserção da primeira vagem, e até o ápice da haste principal, em centímetros, respectivamente; número de nós da planta, a partir do nó cotiledonar, inclusive, até o último nó da haste principal; número de vagens com uma, duas, três ou quatro sementes e vagens chochas; número de sementes por planta, de sementes por vagem, de vagens por planta e peso de cem sementes.

As sementes das plantas que apresentaram maior número e peso de sementes foram analisadas quanto aos teores de proteína e de óleo, totalizando 1.051 plantas, tomando-se aproximadamente 25 sementes de cada planta, as quais foram moídas em moinho modelo MA20, com peneira de 10 mesh, e as farinhas foram submetidas à espectrometria por infravermelho próximo (NIR), em três repetições por planta.

Os dados de cada linhagem foram submetidos a análise de variância, e os resultados apresentados por meio de diagramas de caixa (boxplot), para melhor visualização da distribuição das diferentes variáveis em estudo, por meio do software estatístico computacional “R” (R Core Team, 2015).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A percentagem de emergência de plântulas das duas linhagens, originadas das sementes M1 e M2, nas diferentes doses de radiação gama, aos 21 dias após a semeadura (DAS), está apresentada na Tabela 1. Ao comparar os ganhos percentuais, de cada linhagem, entre as doses de radiação gama, nota-se que para a geração M1 houve ganhos de 4,0% na linhagem VX04-6828 na dose de 150 Gy quando comparado ao controle (0 Gy), e para a VX04-5692 o ganho foi de 10,1% na dose de 50 Gy.

Tabela 1. Emergência de plântulas* (%) de duas linhagens de sementes de soja, irradiadas em quatro doses de raios gama, avaliadas em duas gerações.

Geração	Linhagem	Doses (Gy)			
		0	50	150	250
M1	VX04-6828	68,88	68,55	71,55	65,33
	VX04-5692	70,01	77,11	66,66	63,44
M2	VX04-6828	83,88	80,74	77,77	69,63
	VX04-5692	83,52	81,85	80,92	76,22

*21 dias após a semeadura.

Ambas as linhagens, nas diferentes doses de radiação gama avaliadas, apresentam médias superiores de emergência de plântulas na geração M2 (Tabela 1). Para a linhagem VX04-6828, observou-se incrementos de 21,8; 17,8; 8,7 e 6,6% nas doses de 0, 50, 150 e 250 Gy, respectivamente, da geração M1 para a M2, do mesmo modo, para a linhagem VX04-5692 os ganhos foram da ordem de 19,3; 6,2; 21,4 e 20,2%. Nota-se, ainda, uma redução dos valores médios de emergência de plântulas até os 21 DAS, quando se utilizou a dose de 250 Gy (Tabela 1), comprovando que esta dose de radiação afeta o crescimento e desenvolvimento das plântulas de soja.

A redução no número de plantas das sementes diretamente irradiadas, M1, provavelmente deve ter ocasionado alterações fisiológicas ou aberrações genéticas que reduziram o vingamento das sementes.

Durante a condução da geração M1, observou-se que algumas plantas não puderam ser utilizadas para os estudos posteriores, geração M2, tais como aquelas que se apresentaram cloróticas e não sobreviveram até o 21º dia após a semeadura ou aquelas completamente estéreis. Segundo Sigurbjörnsson (1977), micromutações são de mais fácil identificação na geração M3, por permitirem a manifestação de alelos recessivos e a eliminação de mutações deletérias na geração M2. Em razão disso, as plantas férteis podem ser valiosas pela possibilidade de serem portadoras de possíveis mutações que poderão se expressar em gerações futuras.

Em relação às características avaliadas nas duas linhagens de soja, da geração M2, observa-se a análise de variância para as variáveis: altura de planta na floração plena e na maturação, altura de inserção da primeira vagem, número de nós, número de vagens com uma, duas, três e quatro sementes, número de vagens chochas, de sementes por planta, de sementes por vagem, de vagens por planta, de peso de cem sementes, teor de proteína e de óleo (Tabela 2).

Tabela 2. Resumo da análise de variância para altura de planta na floração plena (ALPLF), altura de planta na maturação (ALPL), altura de inserção da primeira vagem (APV), número de nós (NN), número de vagens com uma semente (V1S), duas sementes (V2S), três sementes (V3S) e quatro sementes (V4S), número de vagens chochas (CHO), número de sementes por planta (NSP), número de sementes por vagem (NSV), número de vagens por planta (NVP), peso de cem sementes (PCS), teor de proteína (PROT) e óleo (OLE), de duas linhagens de soja, irradiadas em quatro doses de raios gama (^{60}Co).

Fonte de variação	GL	Quadrados Médios														
		ALPLF	ALPL	APV	NN	V1S	V2S	V3S	V4S	CHO	NSP	NSV	NVP	PCS	PROT	OLE
----- VX04-6828 -----																
Doses	3	4,25	28,05	1,58	0,25	22,26	9,58	49,49	0,02	0,43	780,3	0,02	125,9	0,57	0,11	0,31
Bloco	2	17,30	35,69	1,06	0,60	6,70	53,27	38,03	0,05	1,08	1257,5	0,001	254,9	1,46	0,36	0,09
Resíduo	6	6,93	71,74	1,36	1,24	19,55	73,35	138,22	0,07	0,86	3123,5	0,006	575,8	1,05	0,32	0,18
----- VX04-5692 -----																
Doses	3	64,00**	67,94***	1,33	2,92*	129,80*	11,92	90,94	0,03	10,95	524,20	0,05***	67,60	1,29	0,88	1,54
Bloco	2	15,23	17,60	0,51	0,28	69,16	30,76	16,94	0,04	8,04	893,90	0,004	285,60	0,93	1,76	0,21
Resíduo	6	7,00	2,99	2,48	0,87	33,41	77,23	64,73	0,02	13,68	2035,90	0,004	439,60	0,49	0,36	0,48

Significativo a 0,1 ***; 1 ** e 5 * % de probabilidade, pelo test F.

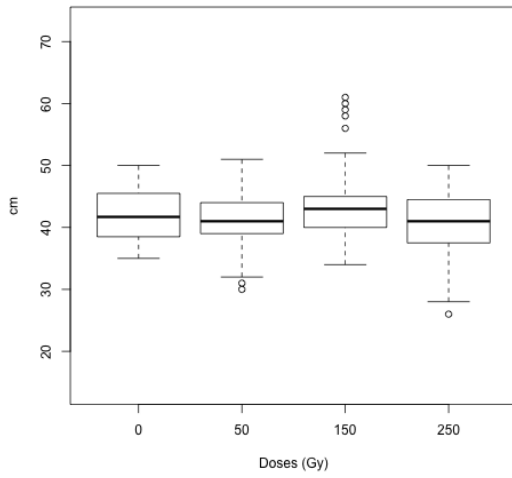
Observa-se que na geração M2, não houve significância de qualquer fonte de variação na linhagem VX04-6828. No caso da VX04-5692, houve efeito de doses de raios gama na altura de planta na floração plena e na maturação, no número de nós, no número de vagens com uma semente e no número de sementes por vagem (Tabela 2). De acordo com Yokomizo et al. (2013), a presença de significância entre os caracteres quando se estudam populações é de interesse para o processo de melhoramento genético, pois garante a existência de variabilidade necessária para a seleção de genótipos superiores.

A distribuição dos dados originados pelas características avaliadas está apresentada nos boxplots (diagramas de caixa) contidos nas figuras de número 1 a 15, que permitem verificar de forma simples e rápida se há distinção do comportamento geral entre as plantas das linhagens. A “caixa” mostra o intervalo que contém os 50% centrais dos dados, com a mediana indicada por uma linha transversal; os dados que extrapolam a caixa, limitados pelos “bigodes” são os valores de máximo e mínimo, conquanto não ultrapassem os limites definidos, a amplitude da caixa; as observações discrepantes (outliers), isto é, que vão além desses limites, são representadas pelos círculos no prolongamento dos bigodes (Krzywinski e Altman, 2014; Wickham e Stryjewski, 2011). No presente estudo, estes sugerem possíveis mutações nos genes que determinam a respectiva característica.

Em ambas as linhagens, tomou-se a planta de maior valor mensurado para cada uma das variáveis avaliadas do controle (0 Gy), para comparação com a média máxima de cada característica dos demais tratamentos (50, 150 e 250 Gy), incluindo os outliers, assim, foi possível observar os ganhos percentuais em função de cada dose de irradiação aplicada.

Na Figura 1 e 2 encontram-se os boxplots dos dados de altura de plantas na floração e na maturação, respectivamente, podendo-se observar o efeito deletério das doses de radiação gama na linhagem VX04-5692. Em ambas as linhagens, nota-se a presença de observações discrepantes (outliers).

VX04-6828



VX04-5692

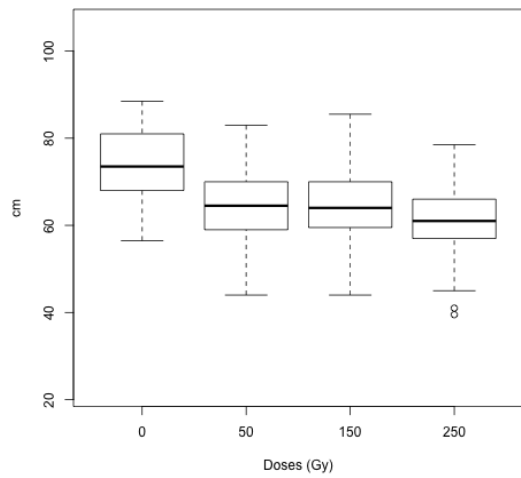
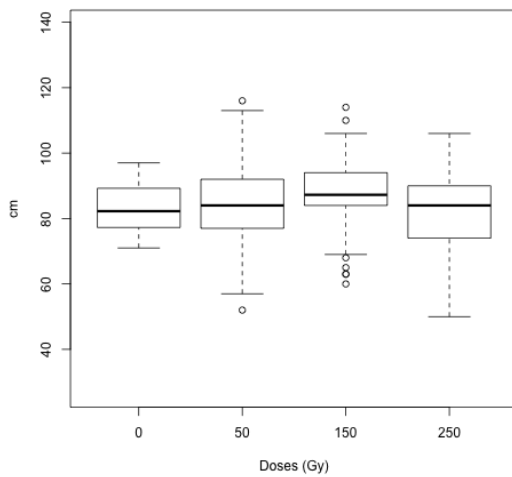


Figura 1. Boxplot dos dados de altura de planta na floração plena de soja, em centímetros (cm), das linhagens VX04-6828 e VX04-5692 submetidas a doses de radiação gama (Gy).

VX04-6828



VX04-5692

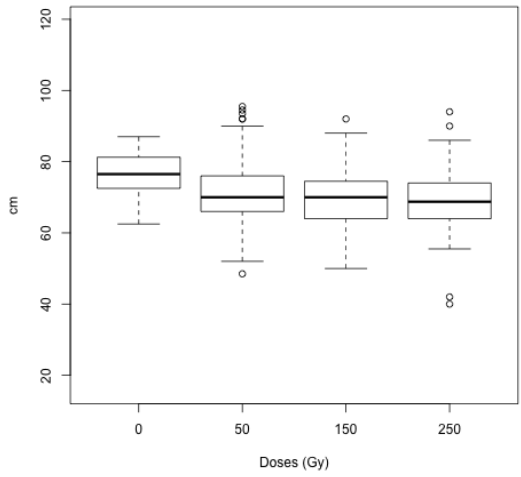


Figura 2. Boxplot dos dados de altura de plantas na maturação de soja, em centímetros (cm), das linhagens VX04-6828 e VX04-5692 submetidas a doses de radiação gama (Gy).

Esses comportamentos diferenciados das linhagens são inerentes às suas respectivas constituições genéticas para maior ou menor suscetibilidade aos efeitos da radiação, uma vez que estudos anteriores já haviam detectado redução na altura de plantas de soja com o aumento da radiação gama (Mudibu et al., 2012; Sarker et al., 2014). Além disso, as maiores alturas de plantas apresentadas pela linhagem VX04-6828 na maturação plena, decorrem do fato de esta ser de crescimento semideterminado, isto é, seu crescimento continua mesmo após o aparecimento da floração axilar ou terminal, enquanto a VX04-5692, ao exibir inflorescência axilar e terminal, já atingiu sua altura máxima, ou seja, seu crescimento é classificado de determinado, conforme Sedyama et al. (2016).

Este fato é reafirmado pelas comparações realizadas entre os dados do controle (0 Gy) e as demais doses, comprovando que não houve ganho para a linhagem de crescimento semideterminado (VX04-5692), nas duas mensurações realizadas. Enquanto, para a linhagem VX04-6828, nota-se ganhos da ordem de 2,0 e 22,0% para as doses de 50 e 150 Gy, respectivamente, e nenhum incremento para a dose de 250 Gy, em altura de plantas na floração plena. Já para a altura de plantas na maturação, os ganhos foram de 19,6; 17,5 e 9,3%, para as doses de 50, 150 e 250 Gy, respectivamente.

A Figura 3 se refere à altura da inserção da primeira vagem, podendo-se notar que não há diferenças entre as doses de radiação, embora ocorra a presença de observações discrepantes nas duas linhagens.

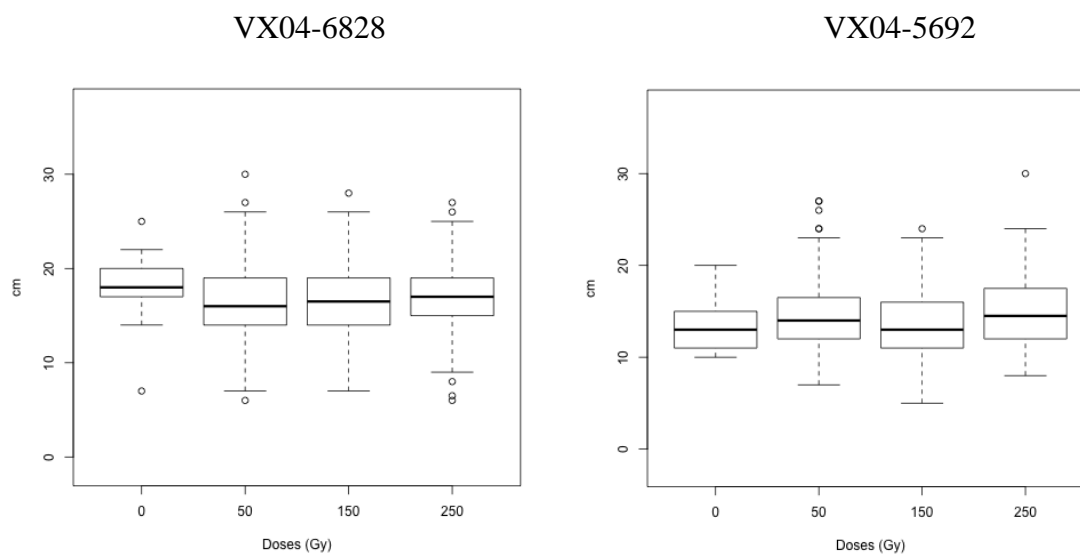


Figura 3. Boxplot para os dados de altura de inserção da primeira vagem de soja, em centímetros (cm), de plantas das linhagens VX04-6828 e VX04-5692 submetidas a doses de radiação gama (Gy).

Para altura de inserção da primeira vagem, a linhagem VX04-6828 exibiu ganhos de 20,0; 12,0 e 8,0% nas doses de 50, 150 e 250 Gy, respectivamente, enquanto, na linhagem VX04-5692, os ganhos foram de 184,5 e 11,1% nas doses de 50 e 250 Gy.

Na Figura 4, representa-se o número de nós por planta das linhagens VX04-6828 e VX04-5692 submetidas a diferentes doses de radiação gama. Observa-se que houve redução do número de nós nas plantas da VX04-5692 quando se utilizou radiação gama, as sementes dessa linhagem parecem mais suscetível à radiação gama, o que deve ter alterado algum processo genético-fisiológico que afetou negativamente o desenvolvimento da planta.

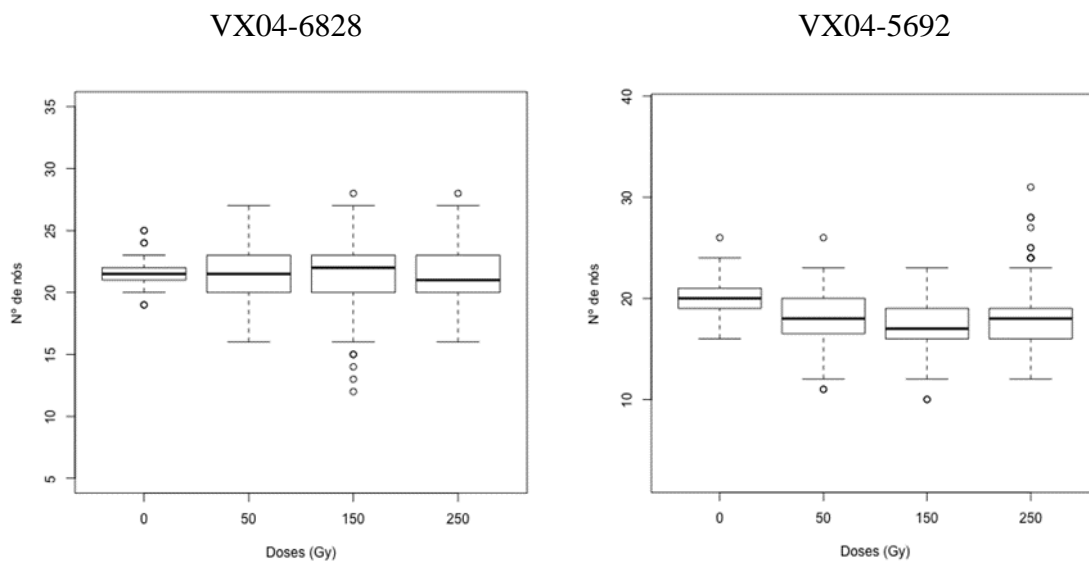


Figura 4. Boxplot dos dados de número de nós por planta de soja das linhagens VX04-6828 e VX04-5692 submetidas a doses de radiação gama (Gy).

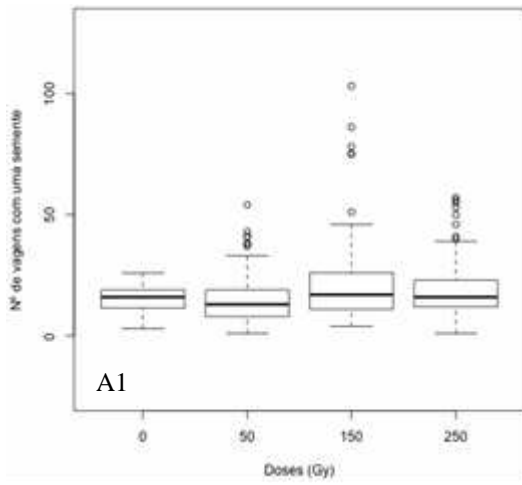
Os diversos processos genéticos e/ou fisiológicos na planta são formados por diferentes rotas metabólicas. Há relatos de que a radiação gama afeta negativamente a germinação, o desenvolvimento e os teores de pigmentos na planta, pela formação de radicais livres (Marcu et al.; 2013). Os raios gama favorecem, ainda, mudanças em vias bioquímicas, perturbam as sínteses de aminoácidos, lipídios, ácidos nucleicos, entre outros compostos, afetam as trocas gasosas, o equilíbrio hormonal e a atividade enzimática (Hameed et al., 2008; Jan et al., 2012).

A redução em número de nós para plantas de soja, conforme observado na linhagem VX04-5692, pelo uso da radiação gama (Figura 4), implica em redução de ramos produtivos, o que pode interferir na produtividade final da cultura.

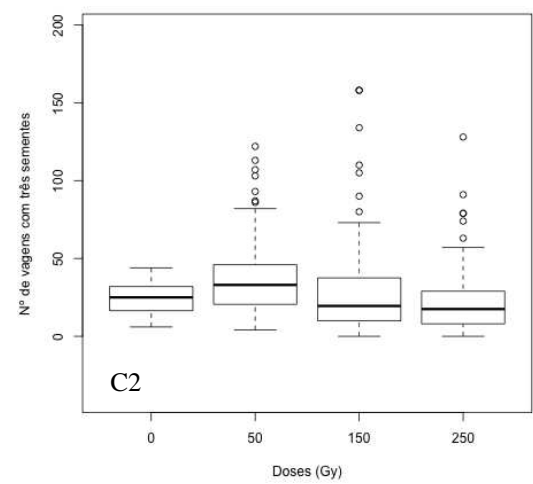
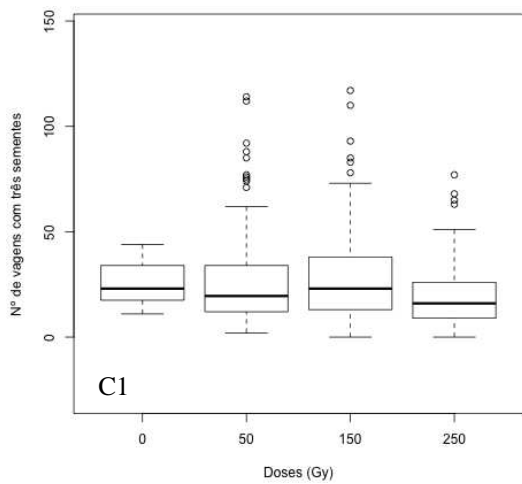
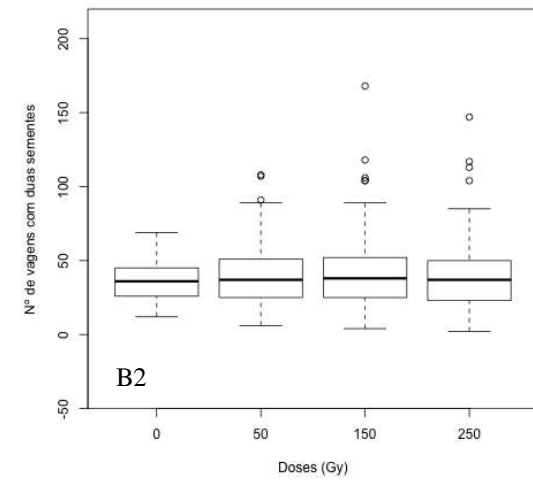
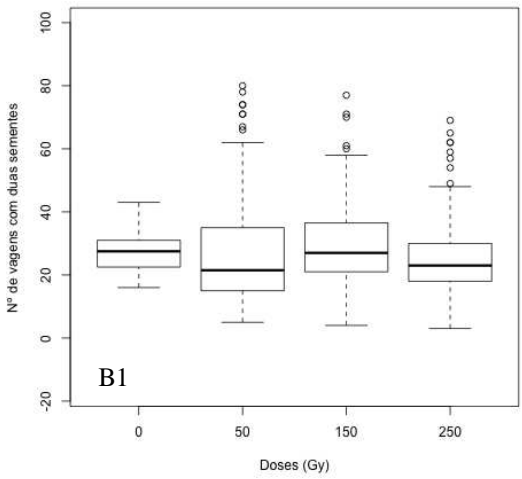
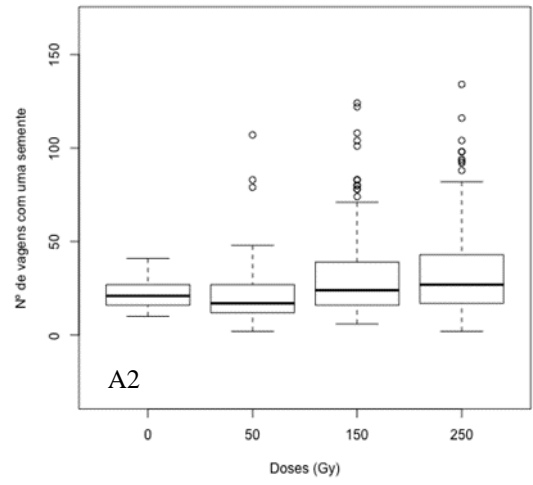
Os ganhos em percentagens para o número de nós na linhagem VX04-6828 foram de 8,0% para 50 Gy e 12,0% para 150 e 250 Gy. Para a linhagem VX04-5692, apenas a dose de 250 Gy apresentou incrementos da ordem de 19,2%.

A Figura 5 (A, B, C, D e E), correspondente às linhagens VX04-6828 e VX04-5692 (1 e 2, respectivamente), expressa os dados de número de vagens com uma, duas, três, quatro sementes e vagens chochas, por planta de cada linhagem em estudo.

VX04-6828



VX04-5692



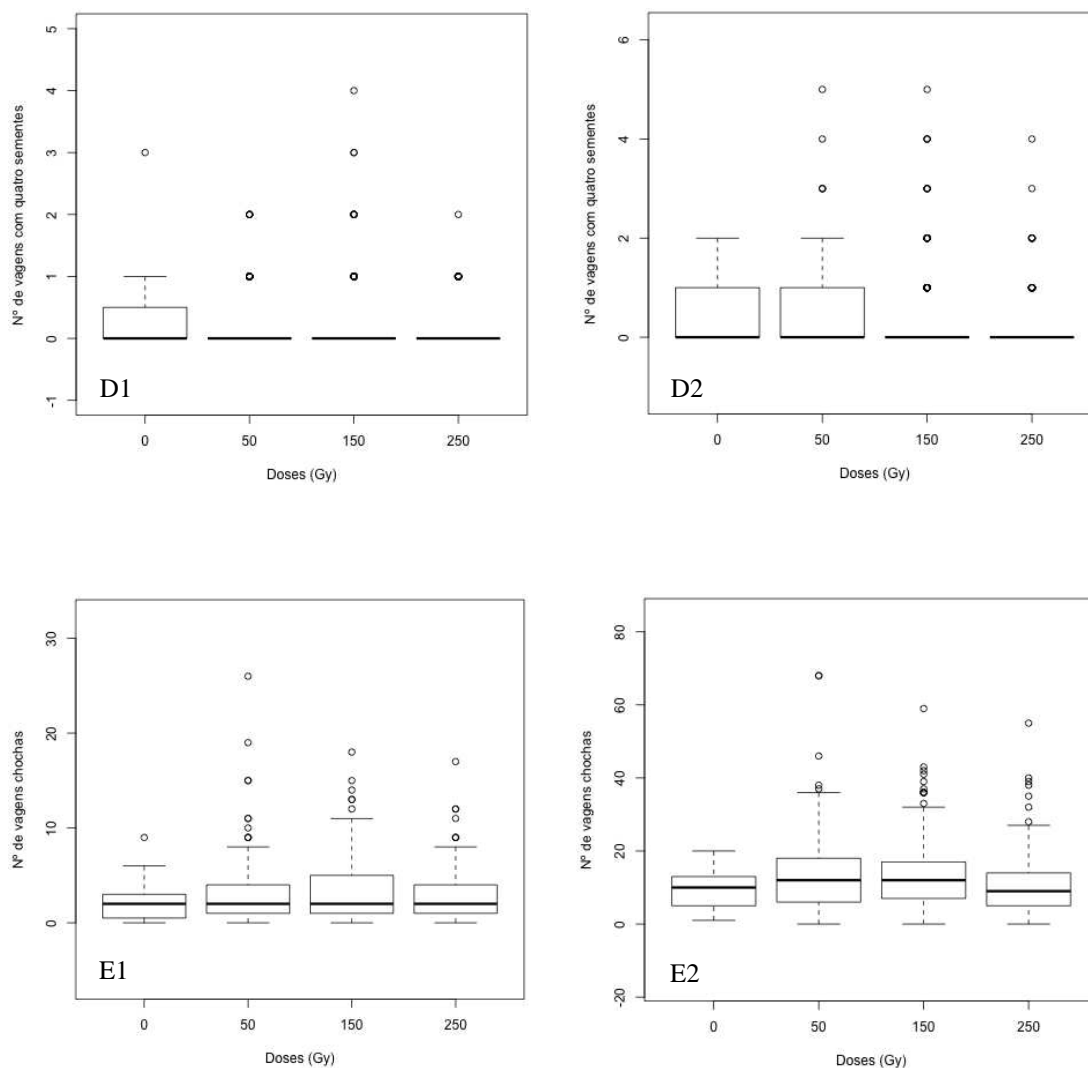


Figura 5. Boxplot dos dados de número de vagens com uma semente (A), com duas sementes (B), com três sementes (C), com quatro sementes (D) e vagens chochas (E) em plantas de soja das linhagens VX04-6828 e VX04-5692 (1 e 2, respectivamente), submetidas a doses de radiação gama (Gy).

Há tendência de aumento da frequência de vagens com apenas uma semente nas doses mais elevadas de radiação gama na linhagem VX04-5692 (Figura 5, A), cuja significância ($P < 0,05$) está indicada no teste F, na Tabela 2. Verifica-se que há tendência de aumento nos limites dos quartis superiores, além das maiores medianas nas doses de 150 e 250 Gy.

Quanto aos outliers, estes foram observados nas diferentes doses de raios gama, indicando alterações pontuais nos genótipos de algumas plantas, com aumento de suas presenças nas doses de 50, 150 e 250 Gy.

No gráfico da Figura 5 (B, C, D e E), foram apresentadas distribuições similares, com aumento da amplitude de variação do estrato dos 50% centrais, com a aplicação de radiação gama, com indicação direta de alterações nas estruturas genéticas ou nos processos fisiológicos das plantas. Observa-se também o aparecimento dos valores discrepantes (outliers), em ambas as linhagens de soja.

Segundo Bizeti et al. (2004), a soja pode aumentar ou diminuir o número de sementes em função de seu tamanho, como uma espécie de efeito tampão, sem variação significativa na produtividade de grãos. No presente estudo, o uso de raios gama afetou o aumento da variabilidade para essas características e, novamente, a linhagem VX04-5692 apresentou-se mais sensível ao uso do mutagênico.

O uso de raios gama parece favorecer o aumento da formação de vagens chochas em plantas das duas linhagens de soja, podendo-se notar maior variabilidade quando aplicada a radiação gama, o que também pode ser visto pela maior presença de outliers (Figura 5, E).

Para as variáveis apresentadas na Figura 5, o número de vagens com uma semente, obteve ganhos da ordem de 107,7; 296,2 e 119,2% nas doses de 50, 150 e 250 Gy, respectivamente, para a linhagem VX04-6828, de maneira recíproca, a linhagem VX04-5692 apresentou ganhos de 161,0; 202,4 e 226,8%. Para as demais variáveis, também, foram observados incrementos, superiores a 33,3%, exceto, para vagens com quatro sementes na linhagem VX04-6828, nas dosagens de 50 e 250 Gy.

A Figura 6 apresenta a distribuição dos dados de número de sementes por planta, das linhagens VX04-6828 e VX04-5692 de soja, quando submetidas a doses de radiação gama.

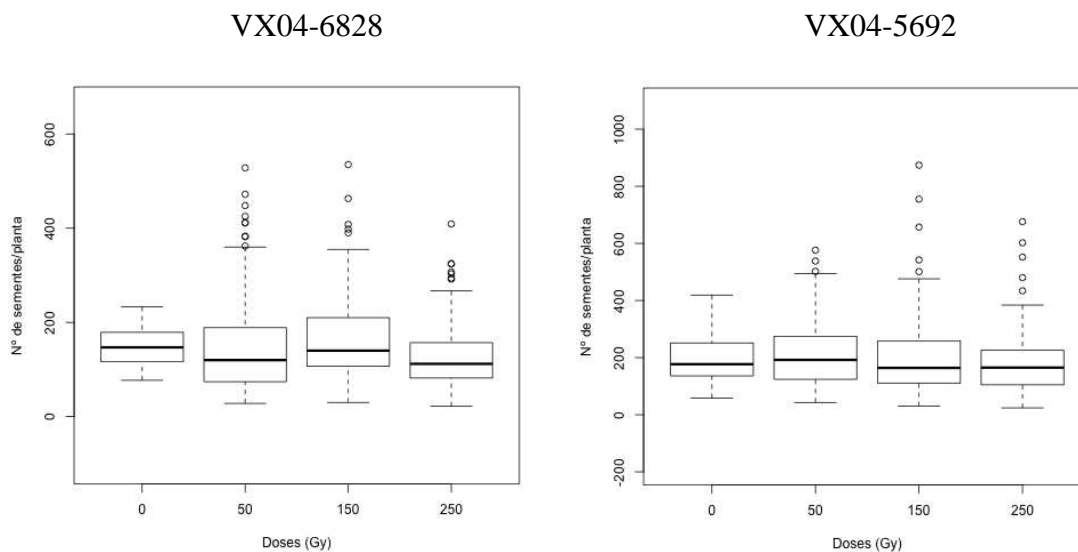


Figura 6. Boxplot para os dados de número de sementes por planta de soja das linhagens VX04-6828 e VX04-5692 submetidas a doses de radiação gama (Gy).

À semelhança da distribuição das vagens com diferentes números de sementes, ocorreu aumento da variabilidade com a aplicação de radiação gama desde 50 Gy, havendo aparecimento de maior número de outliers, indicando possível alteração genética, ou seja, mutação, nas duas linhagens de soja.

A percentagem de ganhos nas doses 50, 150 e 250 Gy, para a linhagem VX04-6828, foi de 126,6; 129,6 e 75,5%, nessa mesma ordem, a linhagem VX04-5692, apresentou incrementos de 37,5; 108,6 e 61,3%.

Na Figura 7, apresentam-se os dados de número médio de sementes por vagem. Conforme já mencionado, ocorreu significância ($p < 0.001$) do efeito de doses de radiação na linhagem VX04-5692 (Tabela 2). Para as duas linhagens, observam-se aumento da variabilidade com a aplicação de radiação gama, bem como da frequência de valores discrepantes (outliers).

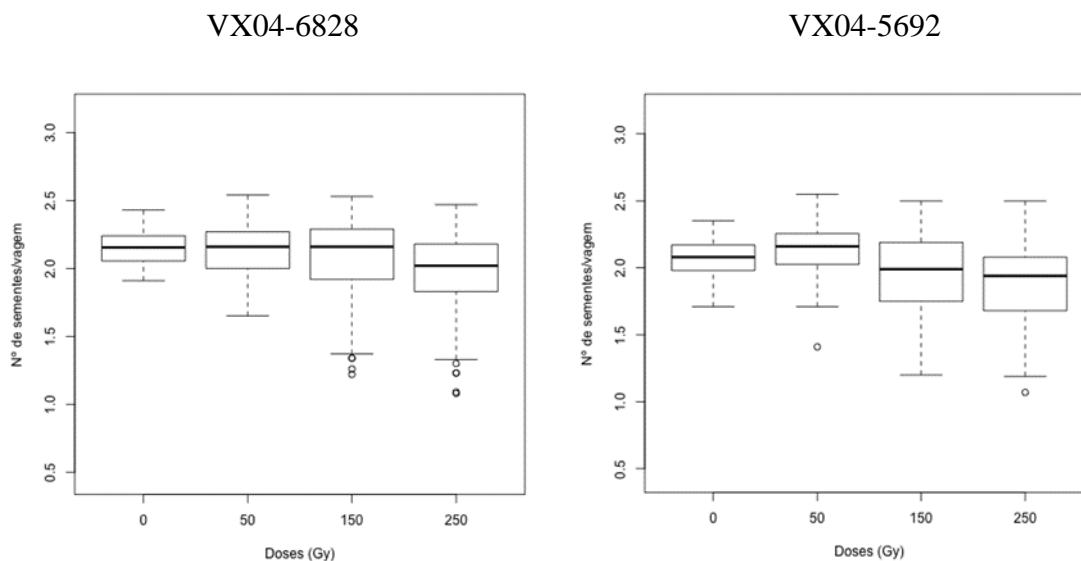


Figura 7. Boxplot dos dados de número de sementes por vagem de soja das linhagens VX04-6828 e VX04-5692 submetidas a doses de radiação gama (Gy).

Para o número de sementes por vagem, menor ganho foi observado na linhagem VX04-6828, com acréscimos de 4,5; 4,1 e 1,6% em comparação ao controle, para as doses de 50, 150 e 250 Gy, respectivamente. Em relação a linhagem VX04-5692, os ganhos foram de 8,5% para 50 Gy e 6,4% para 150 e 250 Gy.

Os boxplots da Figura 8 exibem o número de vagens por planta. A linhagem VX04-6828 apresenta variação nas medianas e nos 50% dos dados centrais, enquanto, na VX04-5692, nota-se maior similaridade na distribuição. Para as doses de 50, 150 e 250 Gy, de ambas as linhagens, observaram-se dados discrepantes (outliers).

VX04-6828

VX04-5692

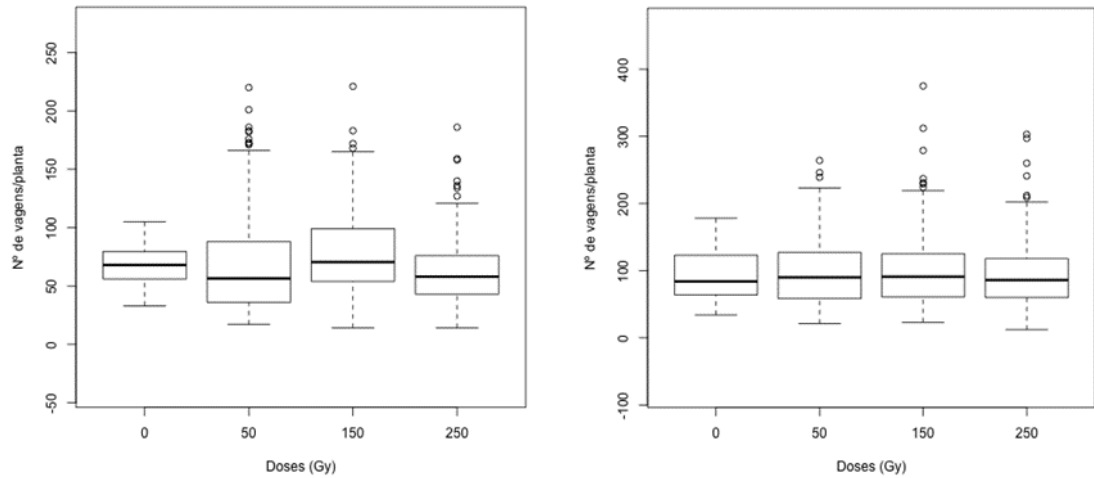


Figura 8. Boxplot dos dados de número de vagens por planta de soja das linhagens VX04-6828 e VX04-5692 submetidas a doses de radiação gama (Gy).

Os ganhos para a linhagem VX04-6828 foram de 109,5; 110,5 e 77,1%, para as doses de 50, 150 e 250 Gy, respectivamente. Na mesma ordem, para a linhagem VX04-5692, os ganhos foram de 48,3; 110,7 e 70,2%.

Os gráficos da Figura 9 exibem o peso de cem sementes de soja. Os boxplots embora apresentem similaridade entre si, nota-se um deslocamento dos dados centrais e da mediana na linhagem VX04-5692. Em todos os tratamentos observaram-se outliers, embora estes estejam em maior número quando as sementes foram irradiadas com raios gama.

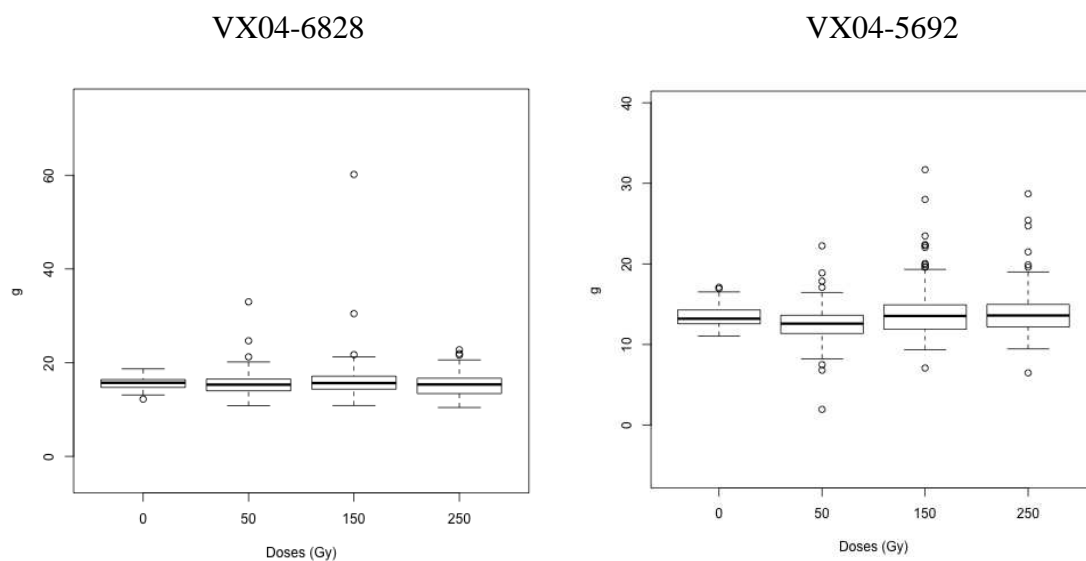


Figura 9. Boxplot dos dados de peso de cem sementes de soja, em gramas (g), das linhagens VX04-6828 e VX04-5692 submetidas a doses de radiação gama (Gy).

Para o peso de cem sementes de soja, a linhagem VX04-6828 apresentou incrementos da ordem de 76,6; 22,3 e 21,9%, para as doses de 50, 150 e 250 Gy, respectivamente. Nessa sequência, a linhagem VX04-5692 exibiu ganhos de 30,0; 85,2 e 67,7%. De modo geral, o incremento observado no presente estudo para as diferentes variáveis avaliadas (Figura 1 a 9), ocorreu pelo uso da radiação gama, uma vez que, foram comparados com a dose controle (0 Gy).

Considerando-se o conjunto das variáveis referentes aos caracteres agrônômicos, conforme expresso nos gráficos, as plantas de soja apresentaram desempenho mais satisfatórios até as doses de 50 ou 150 Gy. Mudibu et al. (2012), ao avaliarem plantas de soja na geração M2, com a aplicação de 200 a 400 Gy, observaram aumento significativo da produção de grãos e dos componentes de rendimento, fato confirmado por Tshilenge-Lukanda et al. (2013), ao empregar 100 Gy de raios gama, em sementes de amendoim (*Arachis hypogaea*) e por Fonte et al. (2013), ao avaliar feijão-fradinho (*Vigna unguiculata*) sob dose de 50 Gy.

As Figuras 10 e 11 apresentam os dados de teor de proteína e de óleo em sementes de soja. A linhagem VX04-5692 parece apresentar maior variação dos teores de proteína, quando suas sementes são irradiadas com raios gama, o que pode ser visto pelo deslocamento dos boxplots em relação ao controle, além do maior

número e dispersão dos outliers, embora estes estejam também presentes na linhagem VX04-6828. De forma correspondente à proteína, os dados de teor de óleo nas sementes indicaram maior dispersão quando a soja foi submetida à radiação gama.

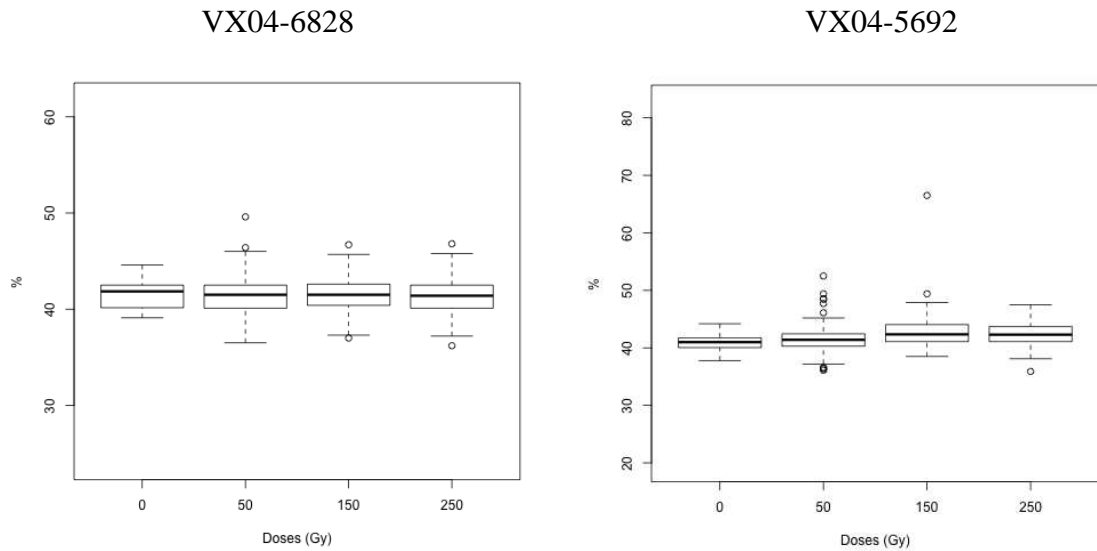


Figura 10. Boxplot dos dados de porcentagem de proteína (%) de sementes de soja das linhagens VX04-6828 e VX04-5692 submetidas a doses de radiação gama (Gy).

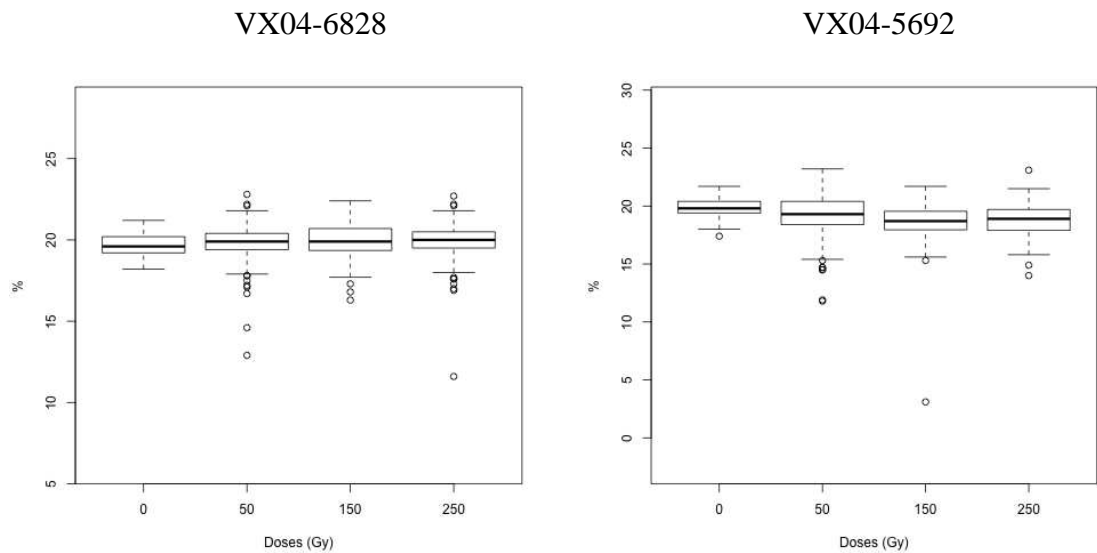


Figura 11. Boxplot dos dados de teor de óleo (%) nas sementes de soja das linhagens VX04-6828 e VX04-5692 submetidas a doses de radiação gama (Gy).

Os teores de proteína e de óleo, juntamente com o rendimento, são as mais importantes características da soja (Xu et al., 2015). Desta maneira, qualquer acréscimo nestes componentes é de substancial interesse para o melhoramento da cultura.

Na linhagem VX04-6828, tomando-se a planta de maior teor de proteína (44,2%) do controle (0 Gy), em comparação com a de maior teor de proteína dos demais tratamentos, 50, 150 e 250 Gy, incluindo os outliers, tem-se acréscimos na ordem de 11,2; 4,7 e 4,9%, respectivamente, indicando possibilidade de ganhos no teor de proteína ao utilizar-se radiação gama. Em contrapartida, maiores percentagens de ganhos foram observadas para a linhagem VX04-5692, tendo o controle (0 Gy) 44,6% de proteína, os ganhos percentuais foram de 18,8; 50,5 e 7,5 % para as doses de 50, 150 e 250 Gy, respectivamente.

De modo similar, comparando-se os maiores valores de teor de óleo dos diferentes tratamentos, verifica-se possibilidade de ganhos em relação a testemunha. Para a linhagem VX04-6828, o maior teor de óleo sem aplicação de radiação gama foi de 21,2%, quando aplicadas as doses de 50, 150 e 250 Gy, os máximos observados foram 7,5; 5,7 e 7,1% superiores, respectivamente. Na VX04-5692, o maior teor de óleo foi da ordem de 21,7% para o controle, enquanto os maiores valores se apresentaram em 6,9; 0,0 e 6,5% superiores, nas doses de 50, 150 e 250 Gy, respectivamente.

Verificou-se, ainda, tendência de acréscimos nos teores de proteína enquanto ocorria decréscimo nos teores de óleo quando se contabilizaram as frequências de outliers. Essa tendência negativa entre teores de proteína e de óleo vai ao encontro dos resultados obtidos por Hymowitz et al. (1972), que relatam correlação inversa entre o teor de óleo e proteína nas sementes de soja.

No geral, o uso de raios gama utilizado na presente pesquisa promoveu aumento da variabilidade entre as plantas e da probabilidade de identificação de mutações de importância ao melhoramento genético da soja. A melhor caracterização das plantas pela avaliação de suas progênes poderá indicar alterações favoráveis em algumas plantas que poderão ser utilizadas como parentais em programas de cruzamento.

Gaafar et al. (2016) afirmam que a irradiação gama é uma ferramenta muito importante na reprodução de mutação e que foi usada ainda para criar a variação genética, sendo esta, utilizada para desenvolver variedades com novas características exigidas, incluindo a resistência à doença, ao frio e tolerante a salinidade, promovendo assim uma cultura de alta qualidade.

CONCLUSÕES

O uso de radiação gama aumenta a variabilidade em linhagens de soja, com consequente aumento das probabilidades de identificação de novos mutantes, úteis a programas de melhoramento que visam melhor desempenho agrônomico e ganhos nos teores de óleo e de proteína.

Resultados mais satisfatórios na geração de variabilidade são obtidos pela aplicação de doses de radiação gama em sementes secas de soja entre 50 e 150 Gy.

A linhagem VX04-5692 apresenta maior sensibilidade à radiação gama, quanto ao aumento da variabilidade genética.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à Capes, pela concessão das bolsas de estudo, à UFV, pelo apoio estrutural, e ao CENA-USP, pelos trabalhos de irradiação das sementes de soja.

REFERÊNCIAS

BARNES, S. Effect of genistein on in vitro and in vivo models. **The Journal of Nutrition**, p.777-783. 1995.

BIZETI, H.S.; CARVALHO, C.G.P.; SOUZA, J.R.P.; DESTRO, D. Path analysis under multicollinearity in soybean. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, n.5, p.669-676, 2004.

- COSTA, R.M.A.; LIMA, W.C.; VOGEL, C.I.G.; BERRA, C.M.; LUCHE, D.D.; MEDINA-SILVA, R.; GALHARDO, R.S.; MENCK, C.F.M.; OLIVEIRA, V.R. DNA repair-related genes in sugarcane expressed sequence tags (ESTs). **Genetics and Molecular Biology**, v.24 n.1-4, p.131-140, 2001.
- COIMBRA, J.L.M.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C.; SILVA, J.A.G.; LORENCETTI, C. Comparação entre mutagênicos químico e físico em populações de aveia. **Ciência Rural**, v.35, n.1, p.46-55, 2005.
- FONTES, L.S.; ARTHUR, P.B.; ARTHUR, V. Efeitos da radiação gama em sementes de feijão (*Vigna unguiculata* L.) visando o aumento de produção. **Revista Verde**, v.8, n.4, p.11-14, 2013.
- GAAFAR, R.M.; HAMOUDA, M.; BADR, A. Seed coat color, weight and eye pattern inheritance in gamma-rays induced cowpea M2-mutant line. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, p. 1-8. 2016. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1687157X15000669>. Acesso em: 18 fev 2016.
- HAMEED, A.; SHAH, T.M.; ATTA, B.M.; HAQ, M.A.; SAYED, A. Gamma irradiation effects on seed germination and growth, protein content, peroxidase and protease activity, lipid peroxidation in desi and kabuli chickpea. **Pakistan Journal of Botany**, v 40, n.3, p.1033–1041, 2008.
- HYMOWITZ, T.; COLLINS, F.I.; PANCZNER, J.; WALKER, W.M. Relationship between the content of oil, protein, and sugar in soybean seed. **Agronomy Journal**, v.64, n.5, p.613-616, 1972.
- JAN, S.; PARWEEN, T.; SIDDIQI, T.O.; MAHMOODUZZAFAR, X. Effect of gamma radiation on morphological, biochemical, and physiological aspects of plants and plant products. **Environmental Reviews**, v.20, p.17-39, 2012.
- KRZYWINSKI, M.; ALTMAN, N., Visualizing samples with boxplots. **Nature Methods**, v.11, n.2, p.119-120, 2014.
- MARCU, D.; DAMIAN, G.; COSMA, C.; CRISTEA, V. Gamma radiation effects on seed germination, growth and pigment content, and ESR study of induced free radicals in maize (*Zea mays*). **Journal of Biological Physics**. v. 9, n.4, p.625–634, 2013.

- MUDIBU, J.; NKONGOLO, K.K.C.; KALONJI-MBUYI, A.; KIZUNGU, R.V. Effect of gamma irradiation on morpho-agronomic characteristics of soybeans (*Glycine max* L.). **American Journal of Plant Sciences**, v.3, n.3, p.331-337, 2012.
- MORITA, R.; NAKANE, S.; SHIMADA, A.; INOUE, M.; IINO, H.; WAKAMATSU, T.; FUKUI, K.; NAKAGAWA, N.; MASUI, R.; KURAMITSU, S. Molecular mechanisms of the whole DNA repair system: a comparison of bacterial and eukaryotic systems. **Journal of Nucleic Acids**, p.1-32, 2010.
- OLIVEIRA, R.C.T.; SEDIYAMA, T.; SEDIYAMA, H.A.; NOGUEIRA, A.P.O. Composição Química. In: SEDIYAMA, T. (ed). **Tecnologia de produção de sementes de soja**. Editora Mecenas, Londrina, 2013. p.73-87.
- RAMCHANDER, S.; USHAKUMARI, R.; PILLAI, M.A. Lethal dose fixation and sensitivity of rice varieties to gamma radiation. **Indian Journal of Agricultural Research**, v.49, n.1, p.24-31, 2015.
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. 2015. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 22 set. 2015.
- SARKER, S.; RAHMAN, M.S.; ISLAM, M.R.; HASNA, S.; ISLAM, M.S. Effect of gamma radiation on morpho-physiological characters of soybean. **Journal of Environmental Science and Natural Resources**, v.7, n.2, p.25-30, 2014.
- SEDIYAMA, T.; OLIVEIRA, R.C.T.; SEDIYAMA, H.A. A Soja. In: SEDIYAMA, T. Produtividade da soja. 1ed. Londrina: Mecenas, 2016. p.11-18.
- SIGURBJÖRNSSON, B. Introduction: Mutations in plant programmes. In: International Atomic Energy Agency: **Manual on Mutation Breeding**. 2. ed. Vienna: IAEA., 1977. p.1-6.
- TSHILENGE-LUKANDA, L.T.; KALONJI-MBUYI, A.; NKONGOLO, K.K.C.; KIZUNGU, R.V. Effect of gamma irradiation on morpho-agronomic characteristics of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **American Journal of Plant Sciences**, v.4, p.2186-2192, 2013.

- WICKHAM, H.; STRYJEWSKI, L. 40 years of boxplots. 2011. Disponível em: <http://vita.had.co.nz/papers/boxplots.pdf>. Acesso em: 15 dez. 2015.
- TULMANN NETO, A.; PEIXOTO, T.; ALVES, M.C.; OLIVEIRA, J.C.V.; MENTEN, J.O.M.; ATHAYDE, M. Indução de mutação na cultivar de soja IAC-8 visando à obtenção de precocidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, n.2, p.237-244, 1995.
- XU, X.P.; LIU, H.; TIAN, L.; DONG, X.B.; SHEN, S.H.; QU, L.Q. Integrated and comparative proteomics of high-oil and high-protein soybean seeds. **Food Chemistry**, v.172, n.1, p.105-116, 2015.
- YOKOMIZO, G.K.; SANTOS, G.R.; FURTADO, R.G.; BRANDÃO, A.P.; COLARES, I.B. Desempenho de progênies de açaizeiros provenientes de duas procedências avaliadas pelo gráfico de caixa. **Revista de Agricultura**, v.88, n.1, p.1-11, 2013.

ARTIGO 2

Radiação gama e tempo de armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de soja

RESUMO - Sementes de elevada qualidade fisiológica são necessárias para atender à produção e à comercialização de soja. Nesse sentido, objetivou-se avaliar o efeito da radiação gama e do tempo de armazenamento na qualidade fisiológica de sementes das linhagens de soja, VX04-6828 e VX04-5692. As sementes das duas linhagens foram irradiadas com as doses de 0, 50, 150 e 250 Gy de radiação gama (^{60}Co). Após o primeiro ciclo de produção (M1), as sementes foram armazenadas e avaliadas aos 0, 2, 4 e 6 meses, quanto ao teor de água das sementes, à qualidade fisiológica por meio dos testes de germinação (plântulas normais, anormais e sementes mortas) e de vigor (primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento e matéria seca de plântulas). Os resultados foram submetidos à análise de variância para cada linhagem, utilizando-se o modelo fatorial 4 x 4 (quatro tempos de armazenamento x quatro doses de radiação gama). Quando o teste F foi significativo para a interação ($p \leq 0,05$), foi realizado o ajuste de superfície de resposta. A linhagem VX04-5692 proveniente das sementes irradiadas (M1) é mais sensível ao uso da radiação gama. A melhor qualidade fisiológica das sementes de soja na geração M1 é expressa em doses inferiores a 100 Gy e até 2 meses de armazenamento. O aumento de doses de radiação gama, juntamente com o aumento do período de armazenamento, após o primeiro ciclo de produção, reduz a qualidade fisiológica de sementes de soja.

Palavras-chave: Glycine max, irradiação, vigor, germinação.

Gamma radiation and storage time on the physiological quality of soybean seeds

ABSTRACT - High physiological quality seeds are necessary to meet the needs of soybean production and commercialization. In this sense, we aimed to evaluate the effect of gamma radiation and storage time on the physiological quality of seeds of

two soybean lines, VX04-6828 and VX04-5692. The soybean seeds of two lines were irradiated with 0, 50, 150 and 250 Gy of gamma radiation (^{60}Co). After the first production cycle (M1), the seeds were stored and were evaluated after 0, 2, 4 and 6 months, for water content and physiological quality that was evaluated through their germination potential (normal seedlings, abnormal and dead seeds) and vigor (first germination count, germination speed index and dry matter and length of seedling). The results were subjected to analysis of variance for each line, using a 4 x 4 factorial model (four periods of storage x four doses of gamma rays). When the F test was significant for interaction ($p \leq 0,05$) a response surface was adjusted. The VX04-5692 line from the irradiated seeds (M1) is more sensitive to the use of gamma radiation. The best physiological quality of soybean seeds in M1 generation was expressed in doses lower than 100 Gy and up to 2 storage months. Increasing gamma radiation doses and storage period, after the first production cycle, reduces the physiological quality of soybean seeds.

Keywords: Glycine max, irradiation, vigor, germination.

INTRODUÇÃO

O sucesso da produção de soja depende da utilização de cultivares adequadas, com bons potenciais de produtividade, e da utilização de sementes de alta qualidade. A qualidade das sementes é herdada geneticamente e pode apresentar variação quanto ao vigor, germinação e emergência de plântulas (França Neto et al., 2007; Mertz et al., 2009; Santos et al. 2012).

A indução de mutação por agentes mutagênicos físicos, como o uso da radiação gama, tem sido utilizada para alcançar as modificações na estrutura do DNA, com propósito de aumentar a variabilidade genética e a criação de novos genes de interesse (Borém; Miranda, 2013). O uso da radiação gama em soja permitiu identificar linhagens mutantes com várias características favoráveis ao uso dessa espécie na alimentação humana, como a baixa atividade de inibidor de tripsina e o baixo ou nulo teor de lipoxigenase, ou seja, linhagens com menor teor de fatores antinutricionais e com melhor qualidade sensorial (Dixit et al., 2011; Lee et al.,

2011). Além disso, a utilização da radiação gama nos alimentos é feita para os mais diversos fins, como aumentar o tempo de vida útil, desinfecção de agentes inibidores de brotação (germinação) e inativação de organismos que os degradam (Santos et al., 2010). Para soja, a taxa de germinação e o comprimento de brotações foram reduzidos por meio do uso de irradiação em sementes (Yun et al., 2013).

No que se refere ao uso de raios gama (^{60}Co), são escassas as informações a respeito da qualidade fisiológica sobre as sementes irradiadas. Miranda et al. (2009) relatam que as sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) submetidas à radiação gama não tiveram a qualidade fisiológica afetada, enquanto, Santos et al. (2010) ressaltam seus efeitos na qualidade das sementes de amendoim (*Arachis hypogaea*).

Há relatos de que, para a qualidade de sementes irradiadas, as doses e o tempo de armazenamento são os principais fatores atrelados ao bom desempenho das mesmas (Miranda et al., 2009; Alves et al., 2011). Em vista disso, fazem-se necessários estudos da interação doses de raios gama x armazenamento, visto que cada fator isolado apresenta efeitos específicos, que podem influenciar ou não a qualidade das sementes.

Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito das doses de radiação gama e do armazenamento de sementes de soja na qualidade fisiológica de duas linhagens.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de duas linhagens de soja (VX04-6828 e VX04-5692), com teor de água de aproximadamente 12,0%, foram irradiadas com as doses de 0 (controle), 50, 150 e 250 Gy de radiação gama, proveniente de uma fonte de ^{60}Co , tipo Gammacell-220, sob dose de $0,312 \text{ kGy.h}^{-1}$, instalada no Centro de Energia Nuclear na Agricultura - CENA/USP, Piracicaba, SP. Em seguida, foram semeadas no Campo Experimental “Diogo Alves de Mello” da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG, originando plantas na geração M1.

Seguida à colheita, as sementes M2, retiradas das plantas M1, foram condicionadas em embalagens de papel kraft pardo e armazenadas em condições

ambientais de laboratório ($\pm 25^{\circ}\text{C}$ e $\pm 50\%$ de UR), no Laboratório de Melhoramento de Sementes de Soja da UFV, na cidade de Viçosa, MG. As avaliações foram realizadas ao 0, 2, 4 e 6 meses após o armazenamento.

Para a condução do experimento, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes, exceto, para o teor de água, em que foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes para cada linhagem. Determinou-se o teor de água, utilizando o método padrão da estufa, $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas (Brasil, 2009), com resultados expressos em porcentagem.

A qualidade fisiológica das sementes de soja foi inicialmente determinada pelo teste de germinação. Utilizou-se o método do rolo de papel, tipo germitest®, sendo este umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso seco do papel. Os rolos foram colocados em germinador, à temperatura constante de 25°C . As avaliações foram efetuadas no quinto e oitavo dia após o início do teste (Brasil, 2009), com os resultados expressos em porcentagem.

Juntamente com o teste de germinação, foi realizado o teste de primeira contagem de germinação, obtido pelo número de plântulas normais, no quinto dia após a montagem do teste, sendo os resultados também em porcentagem (Brasil, 2009). De cada repetição, foram retiradas 10 plântulas normais no terço médio do papel, em seguida, foram mensurados o comprimento das plântulas, com auxílio de uma régua. Ainda em conjunto, obteve-se o índice de velocidade de germinação, anotando-se, diariamente, no mesmo horário, o número de plântulas que apresentaram protrusão de radícula, durante os oito dias de avaliação. Ao final do teste, com os dados diários do número de sementes germinadas, foi calculado o índice de velocidade de germinação (Maguire, 1962).

Os dados foram submetidos à análise de variância, para cada linhagem, utilizando-se o modelo fatorial 4×4 (quatro tempos de armazenamento x quatro doses de raios gama). Quando o teste F foi significativo ($p < 0,05$), foi realizado ajuste de superfície de resposta, sendo a seleção do melhor modelo realizado pelo procedimento Stepwise, empregando-se o nível de significância de $p < 0,15$ para entrada e permanência das variáveis no modelo de regressão múltipla (SAS Institute, 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância dos dados de cada linhagem indicou que houve efeito geral de doses de radiação gama e do tempo de armazenamento, bem como da interação raios gama x armazenamento para: germinação, primeira contagem, plântula anormal, semente morta e índice de velocidade de germinação, em ambas as linhagens. Observou-se, ainda, a interação no comprimento de plântulas da linhagem VX04-5692 (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância para teor de água (TA), germinação (G), primeira contagem (PC), plântula anormal (PA), semente morta (SM), comprimento de plântulas (COMP), matéria seca (MS) e índice de velocidade de germinação (IVG), de sementes de soja das linhagens VX04-6828 e VX04-5692, irradiadas em quatro doses de raios gama e quatro tempos de armazenamento.

Fonte de variação	GL	Quadrados Médios							
		TA	G	PC	PA	SM	COMP	MS	IVG
..... VX04-6828									
Armazenamento (A)	3	3,76*	422,73*	399,03*	45,06*	29,93*	33,13*	2,04*	821,51*
Dose (D)	3	0,49	2184,23*	3217,73*	26,31*	74,31*	137,69*	6,22*	756,56*
A x D	9	0,38	89,73*	159,45*	6,67*	11,95*	1,38	0,46	42,75*
Erro	15	0,25	16,19	30,77	2,20	1,00	0,79	0,31	2,58
C.V. (%)		4,16	4,71	7,28	60,50	57,80	5,30	9,75	4,79
..... VX04-5692									
Armazenamento (A)	3	8,12*	133,50*	237,50*	31,06*	25,31*	12,08*	4,19*	514,23*
Dose (D)	3	0,18*	2908,83*	5671,17*	46,81*	99,89*	247,06*	3,23*	880,86*
A x D	9	0,32	66,22*	78,56*	8,49*	5,90*	6,65*	0,29	44,50*
Erro	15	0,06	16,20	32,12	2,21	1,09	1,15	0,25	2,26
C.V. (%)		2,03	4,62	7,07	70,53	59,37	6,12	9,25	4,09

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Na Figura 1, apresentam-se as respostas da variável germinação às doses de irradiação e ao tempo de armazenamento (linhagens VX04-6828 e VX04-5692). Observa-se que, com o aumento da radiação e do tempo de armazenamento, ocorre decréscimo na germinação das sementes.

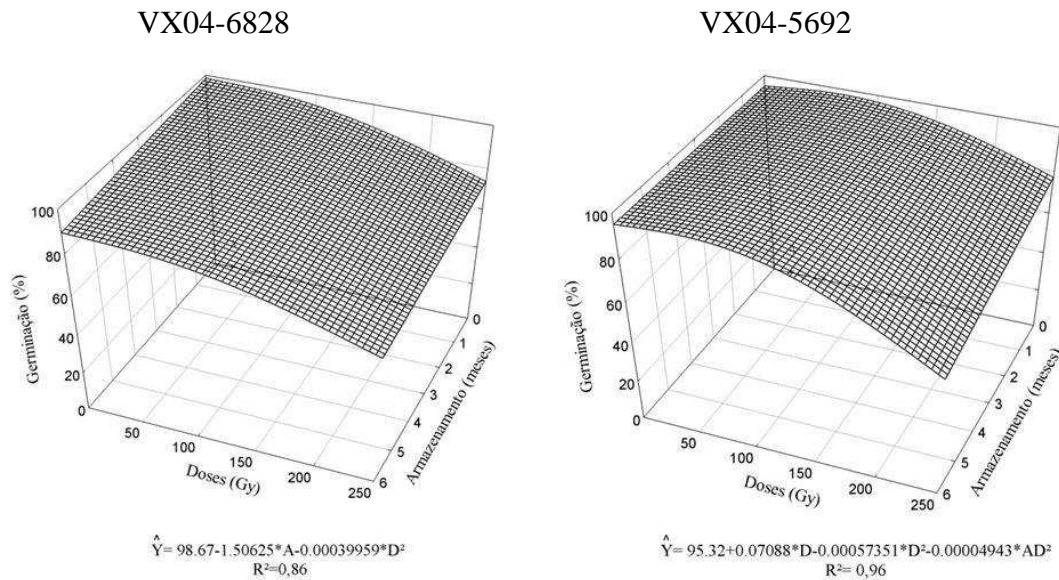


Figura 1. Germinação de sementes de duas linhagens de soja, VX04-6828 e VX04-5692, em resposta à aplicação de radiação gama e ao tempo de armazenamento.

Maity et al. (2009) também observaram resultados similares ao estudar a influência das doses de raios gama (1 a 6 kGy) na germinação de sementes de arroz avaliadas a longo prazo; no entanto, estes autores avaliaram sementes diretamente irradiadas, não houve plantio e colheita após a radiação gama, enquanto no presente estudo tratam-se de sementes de plantas originadas de sementes irradiadas. Consequentemente, os efeitos da irradiação são reflexos de alterações causadas nas sementes de natureza fisiológica ou genética, alterando o desempenho das plantas com consequências sobre as suas sementes.

A qualidade é a meta prioritária no processo de produção de sementes, dela dependem a germinação e a emergência das plântulas (Vasconcelos et al. 2009). Plântulas provenientes de sementes de alto vigor emergem mais rapidamente e de

forma uniforme, iniciam o processo fotossintético mais cedo, favorecendo o crescimento da parte aérea e do sistema radicular. Desta forma, espera-se que sementes oriundas de plantas mais vigorosas sejam normais e apresentem também melhor desempenho, produzindo maior número de vagens e de sementes (Krzyzanowski; França Neto, 1999).

Sementes tratadas com radiação gama em doses radiosensíveis apresentam redução na germinação de plantas, no desenvolvimento e no teor de pigmentos fotossintéticos, além de um aumento das espécies de oxigênio reativas, os radicais livres (Marcu et al. 2013).

Em estudo realizado com folhas de soja originadas de sementes irradiadas com altas doses de raio gama (300 Gy), geração M1, observou-se uma diminuição no tamanho das folhas em comparação com aquelas provenientes de sementes não irradiadas, houve decréscimos nas concentrações de pigmentos fotossintéticos e teor de proteínas. A radiação causou ainda o estresse oxidativo, promovendo o aumento da atividade de peroxidase do ascorbato, reduções em número e densidade de estômatos, elevada densidade de tricomas na superfície abaxial das folhas aos 14 e 21 dias após a irradiação (Çelik et al., 2014).

Os diferentes tecidos respondem de forma própria, sendo necessário o uso de radiação que promova mutações sem que haja grande perda no rendimento do indivíduo irradiado (Gazzaneo et al., 2007). Embora o uso da radiação gama no estímulo da germinação de sementes tenha sido relatado (Santos et al., 2010; Alves et al., 2011; Fontes et al., 2013), a dose a ser aplicada e sua intensidade são peculiares a cada cultura. No presente estudo, doses de radiação superiores a 100 Gy, juntamente com o aumento do período de armazenamento, promoveram queda no potencial germinativo das sementes (Figura 1).

Outro fator que afeta a qualidade das sementes, durante a condução dos testes, é o teor de água; quanto mais este se apresenta elevado, mais se intensifica a deterioração (Alencar et al., 2008). No entanto, os teores de água apresentaram-se entre os valores de 10,96 a 12,52%, durante toda a condução dessa pesquisa, não sendo um fator determinante nos resultados apresentados, logo, a redução na qualidade fisiológica das sementes pode ser justificada pela interação no aumento das

doses e do tempo de armazenamento, sendo este o principal fator para a aceleração da perda de qualidade fisiológica.

Os testes de vigor, caracterizados pela primeira contagem de germinação e índice de velocidade de germinação - IVG (Figuras 2 e 3), apresentaram resultados similares ao teste de germinação (Figura 1), ambos os testes, para as duas linhagens, exibiram redução no vigor de sementes com o aumento das doses de raios gama e do tempo de armazenamento.

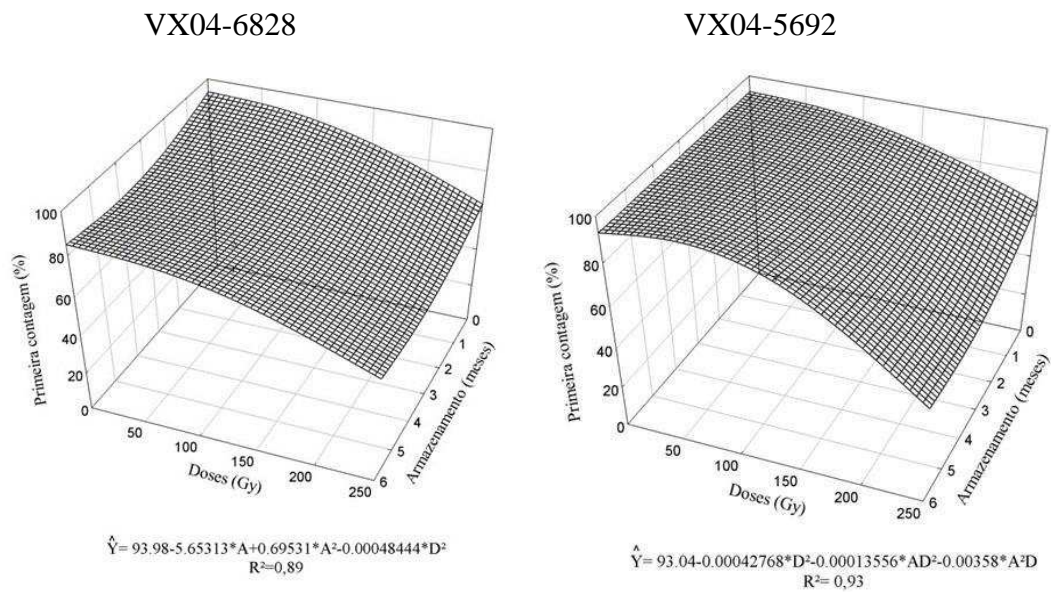


Figura 2. Primeira contagem de germinação de sementes de duas linhagens de soja, VX04-6828 e VX04-5692, em resposta à aplicação de radiação gama e ao tempo de armazenamento.

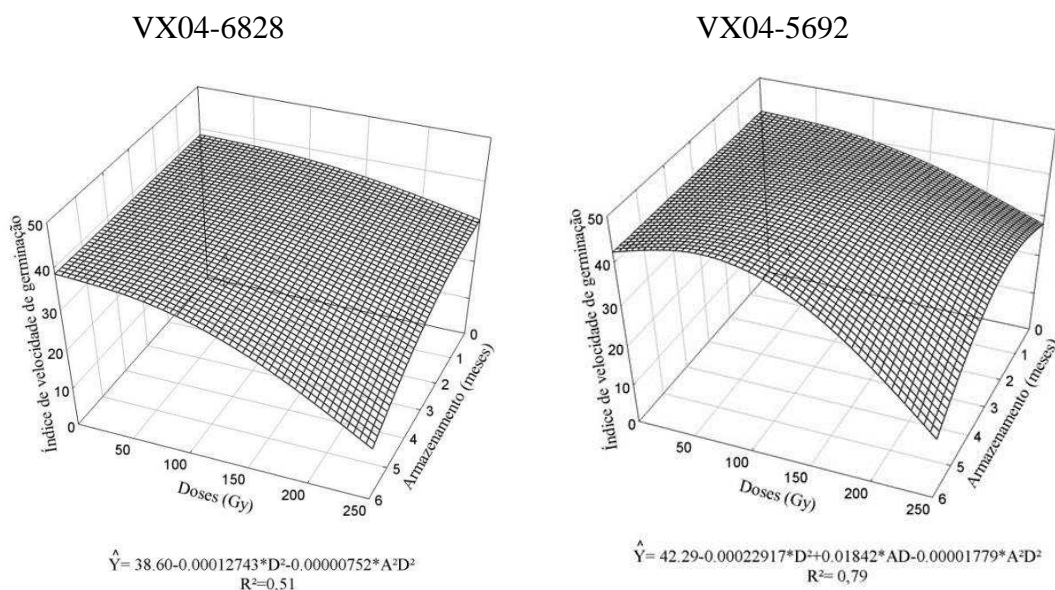


Figura 3. Índice de velocidade de germinação de duas linhagens de soja, VX04-6828 e VX04-5692, em resposta à aplicação de radiação gama e ao tempo de armazenamento.

O declínio no vigor, avaliado pelo teste de primeira contagem e pelo IVG de sementes de soja, está relacionado à deterioração das sementes ao longo do tempo de armazenamento, o que é agravado por maior teor de água e temperaturas elevadas (Smaniotto et al., 2014). Para o presente estudo, esse decréscimo foi intensificado pelo uso das doses de raios gama, uma vez que altas doses de raio gama e também o próprio armazenamento diminuem o vigor das sementes (Prado et al., 2006; Alves et al., 2011).

O decréscimo na germinação e no vigor (Figuras 1, 2 e 3), com o aumento das doses de raio gama e do tempo de armazenamento, podem ainda ser explicados pela sensibilidade das sementes de soja. Há relatos de que o tratamento de sementes com radiação gama (^{60}Co) reduziu a germinação e o vigor, quando as sementes de milho foram expostas a altas doses, superiores a 0,1 kGy, o que simultaneamente promoveu o aumento da produção de radicais livres (Marcu et al., 2013). Os radicais livres reagem rapidamente com quase todas as moléculas orgânicas estruturais e funcionais, causando perturbação do metabolismo celular. Assim, a membrana perde

a sua estabilidade e a permeabilidade, elevando os danos estruturais da célula e promovendo distúrbios fisiológicos (Al-Rumaih et al., 2008; Moghaddam et al., 2011).

Para a variável plântula anormal (Figura 4), a linhagem VX04-6828, sob aplicação de doses de radiação gama entre 50 e 100 Gy, apresentou redução destas e, após isso, aumento gradativo; enquanto a linhagem VX04-5692, à medida que foram aumentadas as doses de radiação gama e o período de armazenamento, elevou a porcentagem de plântulas anormais. O que também é comprovado pelos resultados obtidos no teste de germinação, primeira contagem e índice de velocidade de germinação do presente estudo.

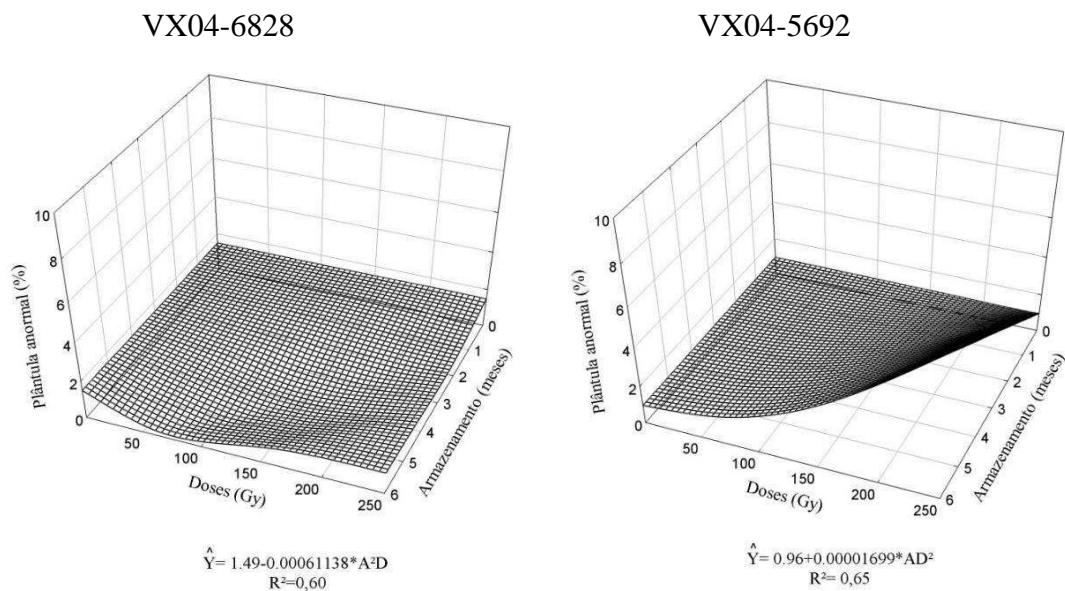


Figura 4. Plântulas anormais de duas linhagens de soja, VX04-6828 e VX04-5692, em resposta à aplicação de radiação gama e ao tempo de armazenamento.

Sementes mortas (Figura 5), em ambas as linhagens, exibiram acréscimo com o aumento das doses de raio gama e do tempo de armazenamento. O número de sementes mortas e plântulas anormais também podem ser explicados pela radiosensibilidade em doses superiores a 100 Gy, além da deterioração das sementes

decorrentes do próprio armazenamento, uma vez que a irradiação tem se mostrado um processo eficaz para conservação de sementes.

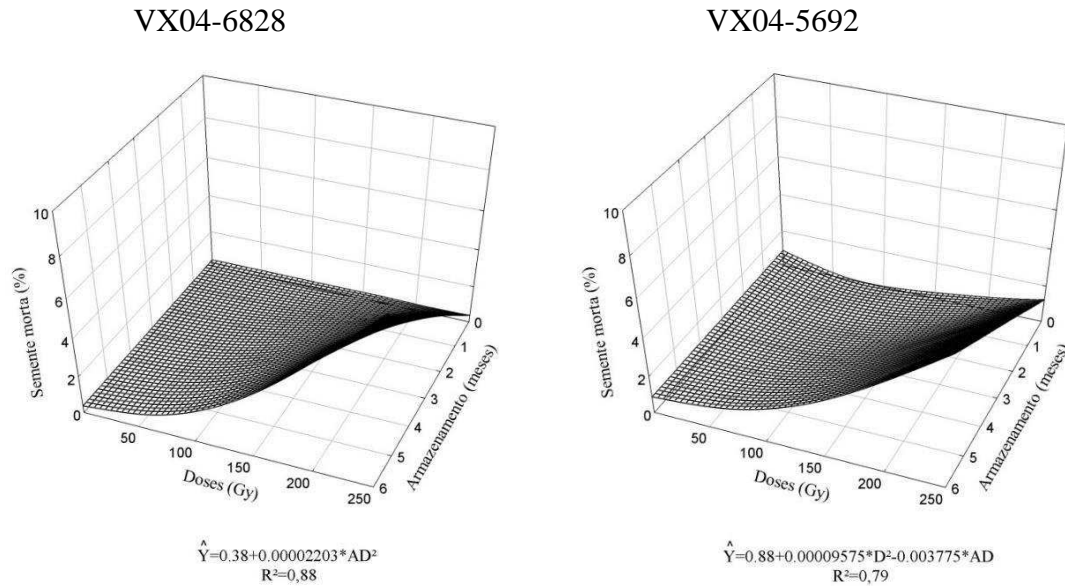


Figura 5. Sementes mortas de duas linhagens de soja, VX04-6828 e VX04-5692, em resposta à aplicação de radiação gama e ao tempo de armazenamento.

A Figura 6 representa a resposta da variável comprimento de plântula de soja da linhagem VX04-5692, em função das doses de irradiação e do tempo de armazenamento. O aumento das doses de radiação gama e do tempo de armazenamento promoveu redução no comprimento de plântulas. Novamente, essa interação tem efeito sobre o vigor das plântulas, porém, apenas para aquelas da linhagem VX04-5692, indicando ser esta mais sensível à radiação gama.

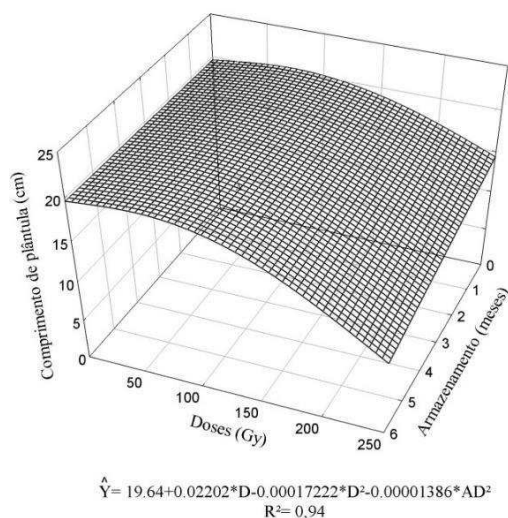


Figura 6. Comprimento de plântula de soja da linhagem VX04-5692, em resposta à aplicação de radiação gama e ao tempo de armazenamento.

Barros e Arthur (2005) observaram que sementes de soja, irradiadas e avaliadas durante 30 dias, exibiram redução drástica na altura das plantas, com o aumento das doses. Para o presente estudo, em apenas 5 dias (primeira contagem de germinação), já foi observada diferença pelo uso da radiação gama e armazenamento no comprimento de plântulas da linhagem VX04-5692. Há ainda relatos (Hell et al., 1976; Silva et al., 2011) de que sementes e plântulas de diferentes espécies, com o uso de altas doses de raios gama, apresentam redução do índice de velocidade de emergência e do comprimento das plântulas.

Mediante os resultados, no geral, os diferentes testes, para ambas as linhagens, apresentaram resultados similares, visto que a melhor qualidade fisiológica foi expressa em doses inferiores a 100 Gy e até 2 meses de armazenamento. Com o aumento das doses e do tempo de armazenamento, observa-se forte diminuição da viabilidade das sementes. Todavia, o uso de doses inferiores a 100 Gy parece favorecer a qualidade das sementes, doses entre 50 e 100 Gy, em comparação com a dose controle (0 Gy), apresentaram pequenas ou nenhuma redução para as características avaliadas e, ainda, possibilitou maior germinação e

comprimento de plântulas para a linhagem VX04-5692, enquanto, que para a linhagem VX04-6828 reduziu o número de plântulas anormais.

CONCLUSÕES

A linhagem VX04-5692 proveniente das sementes irradiadas, após o primeiro ciclo de produção (M1), é mais sensível ao uso da radiação gama.

A melhor qualidade fisiológica das sementes de soja na geração M1 é expressa em doses inferiores a 100 Gy e até 2 meses de armazenamento.

O aumento de doses de radiação gama, juntamente com o aumento do período de armazenamento, após o primeiro ciclo de produção, reduz a qualidade fisiológica de sementes de soja.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à Capes, pela concessão das bolsas de estudo, e à UFV e ao CENA-USP pelo apoio estrutural e irradiação das sementes de soja, respectivamente.

REFERÊNCIAS

- ALENCAR, E. R.; FARONI, L. R. D.; LACERDA FILHO, A. F.; FERREIRA, L. G.; MENEGHITTI, M. R. Qualidade dos grãos de soja em função das condições de armazenamento. **Engenharia na Agricultura**, v.16, n.2, p.155-166, 2008.
- ALVES, N. M. C.; ALMEIDA, F. A. C.; GOMES, J. P.; LEAL, A. S. C.; SILVA, M. M. Viabilidade e micoflora de sementes de amendoim irradiadas com cobalto (^{60}Co). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v.15, n.3, p.289-295, 2011.
- AL-RUMAIH, M. M.; AL-RUMAIH, M. M. Influence of Ionizing Radiation on Antioxidant Enzymes in Three Species of Trigonella. **American Journal of Environmental Sciences**, v.4, n.2, p.151-156, 2008.

- 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. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.2, p.249-253, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 6 ed. Editora UFV, Viçosa, 523 p. 2013.
- ÇELIK, Ö.; ATAĞ, Ç.; SULUDERE, Z. Response of soybean plants to gamma radiation: Biochemical analyses and expression patterns of trichome development. **Plant Omics Journal**, v.5, p.382-391, 2014.
- DIXIT, A.K.; KUMAR, V.; RANI, A.; MANJAYA, J.G.; BHATNAGAR, D. Effect of gamma irradiation on lipoxygenases, trypsininhibitor, raffinose family oligosaccharides and nutritional factors of different seed coat colored soybean (*Glycine max* L.). **Radiation Physics and Chemistry**, v.80, p.597-603, 2011.
- FONTES, L. S.; ARTHUR, P. B.; ARTHUR, V. Efeitos da radiação gama em sementes de feijão (*Vigna unguiculata* L.) visando o aumento de produção. **Revista Verde**, v.8, n.4, p.11-14, 2013.
- FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; PÁDUA, G. P.; COSTA, N. P.; HENNING, A. A. **Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade**. Série Sementes. Circular Técnica 40. 2007.
- GAZZANEO, L. R. S.; COLAÇO, W.; KIDO, E. A.; BENKO-ISENPPON, A. M.; HOULLOU-KIDO, L. M. Efeito da radiação gama sobre o desenvolvimento in vitro de *Vigna unguiculata*. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, supl.2, p.27-29. 2007
- HELL, K. G.; SILVEIRA, M. A. Radiossensibilidade de sementes de *Phaseolus vulgaris* submetidas à radiação gama. **Boletim de Botânica**, v.4, p.113-120, 1976.
- KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: Conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999, 218p.
- LEE, K. J KIM, J-B.; KIM, S. H.; HA, B. K.; LEE, B-M. KANG, S-Y.; KIM, D. S. Alteration of seed storage protein composition in soybean [*Glycine max* (L.)

- Merrill] mutant lines induced by γ -irradiation mutagenesis. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.59, n.23, p.12405-12410, 2011.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.1, p.176-177, 1962.
- MAITY, J. P. KAR, S.; BANERJEE, S.; CHAKRABORTY, A.; SANTRA, S. C. Effects of gamma irradiation on long-storage seeds of *Oryza sativa* (cv. 2233) and their surface infecting fungal diversity. **Radiation Physics and Chemistry**, v.78, p.1006-1010, 2009.
- MARCU, D.; DAMIAN, G.; COSMA, C.; CRISTEA, V. Gamma radiation effects on seed germination, growth and pigment content, and ESR study of induced free radicals in maize (*Zea mays*). **Journal of Biological Physics**, v.39, p.625-634, 2013.
- MERTZ, L. M.; HENNING, F. A.; CRUZ, H. L.; MENEGHELLO, G. E.; FERRARI, C. S.; ZIMMER, P. D. Diferenças estruturais entre tegumentos de sementes de soja com permeabilidade contrastante. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1, p.23-29, 2009.
- 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, p.1320-1326, 2009.
- MOGHADDAM, S.S.; JAAFAR, H.; IBRAHIM, R.; RAHMAT, A.; AZIZ, M. A.; PHILIP, E. Effects of acute gamma irradiation on physiological traits and flavonoid accumulation of *Centella asiatica*. **Molecules**, v.16, p.4994-5007, 2011.
- SMANIOTTO, T. A. S.; RESENDE, O.; MARÇAL, K. A. F.; OLIVEIRA, D. E. C.; SIMON, G. S. Qualidade fisiológica das sementes de soja armazenadas em diferentes condições. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, n.4, p.446-453, 2014.
- PRADO, G. CARVALHO, E. P.; MADEIRA, J. E. G. C.; MORAIS, V. A. D.; OLIVEIRA, M. S.; CORRÊA, R. F.; CARDOSO, V. N. Efeito da irradiação gama (Co^{60}) na frequência fúngica de amendoim in natura em função do tempo de prateleira. **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, n.5, p.930-936, 2006.

- SANTOS, T. S. ALMEIDA, F. A. C.; SUASSUNA, T. M. F.; COUTINHO, W. M.; ALMEIDA, P. B. A. Resposta de sementes de amendoim a diferentes doses de radiação gama (^{60}Co). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, n.10, p.1074-1078, 2010.
- SANTOS, E. R.; BARROS, H. B.; CAPONE, A.; DE MELO, A. V.; CELLA, A. J. DA S.; SANTOS, W. R. Divergência genética entre genótipos de soja com base na qualidade de sementes. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.7, n.2, p.247-254, 2012.
- SAS INSTITUTE. **Statistic Analysis System**. User's guide: statistics: version 8.0. Cary: SAS Inst., 2004.
- SILVA, A. S.; DANIELOWSKI, R.; BRAGA, E. J. B.; DEUNER, S.; MAGALHÃES JUNIOR, A. M.; PETERS, J. A. Development of rice seedlings grown from pre-hydrated seeds and irradiated with gamma rays. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.6, p.1093-1100, 2011.
- VASCONCELOS, E.S.; REIS, M. S.; SEDYIAMA, T.; CRUZ, C. D. Qualidade fisiológica de sementes de cultivares e linhagens de soja no Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.31, n.2, p.307-312, 2009.
- YUN, J.; LI, X.; FAN, X.; LI, W.; JIANG, Y. Growth and quality of soybean sprouts [Glycine max (L.) Merrill] as affected by gamma irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v.82, p.106–111, 2013.

CONCLUSÕES GERAIS

- O uso de radiação gama aumenta a variabilidade em linhagens de soja, com consequente aumento da probabilidade de se identificar novos mutantes, úteis a programas de melhoramento que visam melhor desempenho agrônômico e ganhos nos teores de óleo e de proteína.
- Resultados mais satisfatórios na geração de variabilidade são obtidos pela aplicação de doses de radiação gama em sementes secas de soja entre 50 e 150 Gy.
- A linhagem VX04-5692 apresenta maior sensibilidade à radiação gama, quanto ao aumento da variabilidade genética.
- A melhor qualidade fisiológica das sementes de soja na geração M1 é expressa em doses inferiores a 100 Gy e até 2 meses de armazenamento.
- O aumento de doses de radiação gama, juntamente com o aumento do período de armazenamento, após o primeiro ciclo de produção, reduz a qualidade fisiológica de sementes de soja.