

EFEITOS DA RADIAÇÃO-GAMA EM PLANTAS DE FEIJOEIRO
(*Phaseolus vulgaris*, L.) EM FLORESCIMENTO

A. TULMANN NETO¹ - K. MATSUMOTO² - S.A. MARCHEZONI²

A. ANDO¹ - J.O.M. MENTEN¹

R E S U M O

No presente trabalho, é discutida a possibilidade de utilização da fonte de ⁶⁰Co do CENA para a irradiação com raios-gama, de plantas em florescimento, ilustrando-se tal possibilidade com um trabalho efetuado com feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Vasos contendo duas plantas de feijão do cultivar Carioca, linhagem 6E₁, quando da época de florescimento, foram colocados individualmente no centro da fonte. As doses de radiação utilizadas foram de 1, 2, 3, 4 e 5 kR, além do controle, não irradiado. Acompanhou-se o desenvolvimento das plantas após a irradiação até o final do ciclo e observou-se a emergência das plântulas provenientes das sementes obtidas. Discutem-se os efeitos observados, destacando-se entre estes, a morte da gema vegetativa para todas as doses utilizadas e a esterilidade, observada pela ausência de vagens ou menor número de sementes por vagem na planta, conforme a dose utilizada. Também são discutidas as vantagens ou casos em que se recomendam a irradiação de plantas em florescimento e sugerem-se procedimentos para o caso em que pesquisadores necessitem fazer este tipo de tratamento, utilizando-se as facilidades do CENA.

GAMMA RADIATION EFFECTS ON BEAN PLANTS
(*Phaseolus vulgaris* L.) IN FLOWERING

S U M M A R Y

In the present work, the possibility of utilizing the ⁶⁰Co source in the Center of Nuclear Energy for Agriculture (CENA), São Paulo University, for gamma-irradiation of plants in flower was shown by an experiment with beans (*Phaseolus vulgaris* L.).

Pots with two bean plants in flower, variety Carioca, line 6E₁, were put individually in the center of the source. Doses used were 1, 2, 3, 4 and 5 kR. The development of these plants after irradiation till harvest and seedling emergence of their progeny were observed. The effects of

¹Seção de Radiogenética - CENA.

²Estagiários da Seção de Radiogenética - CENA

- Recebido em 01/02/80.

- Aprovado em 09/05/80.

gamma-rays and the advantages of irradiation of plants in flower were discussed, and recommendable procedures for research workers who need to use the ^{60}Co source of the CENA are suggested.

1. INTRODUÇÃO

A indução de mutação tem sido utilizada com vários objetivos no melhoramento de plantas por meio do emprego de mutagênicos físicos e/ou químicos. Para o caso de mutagênicos físicos, diferentes tipos de radiações têm sido utilizados (SPARROW, 1961; BRIGGS e CONSTANTIN, 1977) bem como diferentes partes das plantas têm sido tratadas, tais como sementes, pólen, flores, gemas, etc., como discutido por GAUL (1961). Ainda este autor considera que, embora as sementes ofereçam um grande número de vantagens, isto não significa necessariamente que seja o melhor método para indução de mutação. Considera este autor que, particularmente flores e também zigotos, merecem atenção e que neste último caso, todo organismo é representado por uma única célula e conseqüentemente não haverá a formação de quimeras podendo-se esperar altas frequências de mutação.

Além das razões expostas anteriormente, existem outras que podem levar o pesquisador a preferir a irradiação de outras partes das plantas, que não as sementes. Dentre estes casos, pode-se citar a obtenção de translocação induzida, como no clássico exemplo de SEARS (1958) em que plantas em florescimento, foram tratadas com raios-X imediatamente antes da meiose. Conseguiu o autor, através da translocação induzida, transferir a resistência à ferrugem da folha de *Aegilops umbellulata* para o trigo comum. O mecanismo de auto-incompatibilidade também pode ser rompido através do tratamento com radiação de plantas em florescimento (DE NETTANCOURT, 1969; VAN GASTEL e DE NETTANCOURT, 1974). O mesmo tipo de tratamento pode também auxiliar na obtenção de híbridos interespecíficos (YAMAKAWA, 1971).

Atualmente, dentre os diversos tipos de radiações, raios-gama têm sido muito utilizados na área de indução de mutação. Podem ser obtidos através de reações nucleares ou radioisótopos. No último caso, as fontes podem ser colocadas em casas de vegetação, câmaras blindadas ou em campos com proteção lateral, conhecidos como campos de raios-gama. Conforme o tipo de fonte, existe maior facilidade para o tratamento de determinada parte da planta. O Centro de Energia Nuclear na Agricultura, tem utilizado para pesquisas na área agrônômica, um irradiador Gammabeam 650, tipo IR31, de alta atividade, descrito em detalhes por ESCOBEDO et alii (1980). Devido às características deste irradiador, colocado em uma câmara blindada, existem maiores facilidades para o tratamento de sementes, pólen ou gemas, do que plantas em florescimento. Na verdade, na maioria dos trabalhos desenvolvidos pelo Setor de Radiogenética do CENA na área de indução de mutação no melhoramento de plantas, sementes têm sido irradiadas. Entretanto, vários pesquisadores têm solicitado informações sobre quais as possibilidades e procedimentos a serem adotados, quando se pretende a irradiação de plantas em florescimento.

Este trabalho, tem por objetivo demonstrar a utilização da fonte de ^{60}Co do CENA para a irradiação de plantas de pequeno porte, no estágio de florescimento. Para isto, escolheu-se a cultura do feijoeiro, e através deste exemplo, irá se demonstrar quais as etapas preliminares que deverão ser efetuadas a fim de que este tipo de tratamento possa ser realizado, nas condições atuais existentes no CENA.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizou-se neste trabalho, a linhagem de feijão denominada 6E, obtida pelo Setor de Radiogenética do CENA a partir do cultivar Carioca (TULMANN NETO *et alii*, 1979). Em julho de 1979, sementes desta linhagem foram semeadas em vasos e mantidas em condições de telado, no CENA. Quando da época de florescimento, vasos contendo duas plantas foram examinados, etiquetando-se botões florais que apresentavam um máximo de 0,5 cm de desenvolvimento. Este tamanho foi escolhido pois segundo indicações de BANDEL (1973), botões florais neste estágio ainda não apresentaram antese e fertilização. Após isto, cada vaso foi colocado individualmente no centro da fonte de ^{60}Co (Figura 1) a uma distância de 80 cm dos 12 tubos expositores, utilizando-se para a irradiação, 6 destes tubos, alternadamente. As doses foram de 1, 2, 3, 4 e 5 kR sendo a taxa de dose de 47 kR/h, utilizando-se também um controle, em que não houve irradiação. Para cada tratamento foram utilizados 4 vasos, com um número total de 15 botões florais para cada tratamento. Após isto, os vasos foram recolocados no telado, examinando-se os efeitos dos tratamentos durante todo o ciclo de crescimento, nos botões etiquetados, bem como em outros botões não etiquetados. Ao final, foram contados os números de vagens formadas a partir dos botões marcados. Estas vagens foram colhidas, contando-se e pesando-se as sementes obtidas e calculando-se o número médio de sementes por vagem e peso médio das sementes. As sementes obtidas foram plantadas em vasos para se calcular a emergência obtida em cada tratamento.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, são apresentados os resultados obtidos para os diferentes tratamentos efetuados. Observa-se portanto, que dos tratamentos com irradiação, somente com 1 kR houve a formação de vagens provenientes de botões florais previamente marcados, sendo que o número obtido de vagens foi o mesmo do controle. Dentre outros efeitos, deve-se citar o fato de que em todos os tratamentos com irradiação houve paralização do crescimento, observado pelo não desenvolvimento da gema vegetativa da haste principal, em relação ao controle que continuou crescendo normalmente. Nos tratamentos com 1 e 2 kR, após esta morte da gema vegetativa apical, houve ainda o aparecimento de novos botões florais, o que não ocorreu nos tratamentos com 3, 4 e 5 kR. Estes novos botões florais, chegaram a produzir vagens no tratamento com 1 kR, o que não aconteceu com 2 kR.

Observa-se ainda pela Tabela 1, que o número médio de sementes por vagem com 1 kR (3,4) decresceu em relação ao controle (5,7). Entretanto, o peso médio da semente foi maior no tratamento com 1 kR (0,2778 gr) do que no controle (0,2502). Isto pode ser explicado pelo fato das vagens do tratamento com irradiação apresentarem um menor número de sementes, o que possivelmente permitiu um ligeiro maior desenvolvimento destas sementes, traduzido pelo maior peso médio observado. A percentagem de emergência proveniente do tratamento com 1 kR (89%) foi ligeiramente inferior a do controle (97%), mas devido ao baixo número de sementes utilizadas é preferível considerar que os tratamentos apresentaram emergências semelhante do que procurar outras razões. Estas plantas provenientes do tratamento com irradiação não apresentaram diferenças morfológicas em relação ao controle.



a)



b)

Figura 1 - a) Painel de controle do irradiador, no exterior da câmara de irradiação; b) Irradiador Gammabeam-650, no interior da câmara de irradiação e vaso com feijoeiro em florescimento, no ponto central.

Tabela 1 - Efeitos de diferentes doses de radiação gama em plantas de feijoeiro em florescimento.

Tratamentos (kR)	Nº de botões florais tratados	Nº de vagens formadas	Nº médio de sementes por vagem	Peso médio da semente (gr)	Emergência das sementes (%)
0	15	11	5,7	0,2502	97
1	15	11	3,4	0,2778	89
2	15	0	-	-	-
3	15	0	-	-	-
4	15	0	-	-	-
5	15	0	-	-	-

Diversos autores (GAUL, 1977; SPARROW, 1961) discutem as razões da esterilidade observada após o tratamento com irradiação, como a obtida no presente trabalho. Dentre elas, citam-se: 1 - inibição severa do crescimento, que resulta no não florescimento; 2 - flores são formadas mas perdem as estruturas reprodutivas necessárias; 3 - as estruturas reprodutivas estão presentes mas o pólen é abortado; 4 - a fertilização ocorre mas os embriões são abortados antes da maturação; 5 - as sementes se formam mas apresentam má germinação ou morrem após a germinação. Uma das mais comuns, é a ocorrência de gametas não funcionais. A esterilidade pode ser devida a mutações cromossômicas, gênicas, citoplasmáticas ou efeitos fisiológicos, sendo as mutações cromossômicas a principal causa. Examinando-se os dados da Tabela 1, e de acordo com outras considerações feitas anteriormente, pode-se observar 2 graus de esterilidade: um menos severo, no tratamento com 1 kR, onde se observou uma diminuição apenas no nº de sementes por vagem e em que novos botões florais eram capazes de formarem vagens. No outro grau de esterilidade, mais severo, a partir do tratamento com 2 kR, não foram obtidas vagens nem a partir dos botões marcados, e nem a partir de novos botões florais. A esterilidade observada nestes dois casos pode ser devida a algumas das razões apontadas anteriormente, sendo que nos tratamentos onde se observou esterilidade mais severa, pode-se supor que os efeitos fisiológicos e mutações cromossômicas devem ter ocorrido com maior intensidade. As análises citológicas que poderiam comprovar esta última hipótese não foram realizadas por não ser este o objetivo da pesquisa.

No presente experimento, os vasos de cada tratamento foram colocados um por um no centro da fonte de ^{60}Co , para a irradiação com determinada dose. Isto foi feito porque cada tratamento era composto por apenas quatro vasos e também para se evitar problemas com dosimetria. Isto porque haveria a possibilidade de se fazer de uma única vez, a irradiação dos quatro vasos de cada tratamento, se eles fossem colocados externamente aos tubos expositores, dentro da câmara de irradiação. Mas nesse caso, a dose total aplicada já não seria tão corretamente estimada, pois trabalhos detalhados de dosimetria (ESCOBEDO *et alii*, 1980) no CENA têm sido feitos colocando-se

os materiais a serem irradiados, no centro da fonte. Mas para casos onde se tenha grande número de vasos por tratamento ou ainda de acordo com o porte das plantas a serem irradiadas, esta alternativa tem que ser considerada.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos e discutidos neste trabalho, permitem concluir que:

a) A fonte de ^{60}Co do CENA pode também ser utilizada para os casos em que se necessita a irradiação de plantas de pequeno porte, em desenvolvimento.

b) Para a linhagem estudada e condições em que foram efetuados os tratamentos, observou-se que com o aumento da dose de irradiação, aumentaram os efeitos observados, observando-se morte da gema vegetativa e esterilidade, traduzida pelo menor número de sementes por vagem ou ausência de vagens na planta.

c) Para outras linhagens de feijão, deve-se realizar um experimento preliminar, semelhante ao descrito, para a determinação da dose (ou doses) definitivas do tratamento.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANDEL, G. Diferenciação e embriogênia no feijoeiro. In: ESALQ. *Instituto de Genética: relatório científico*. Piracicaba, 1973. p.17-20.
- BRIGGS, R.W. & CONSTANTIN, M.J. Radiation types and radiation sources. In: IAEA. *Manual on mutation breeding*. 2a. ed. Vienna, 1977. p.7-50.
- DE NETANCOURT, D. Radiation effects on the one locus - gametophytic system of self-incompatibility in higher plants. *Theoretical and Applied Genetics*, 39:187-196, 1969.
- ESCOBEDO, J.F.; NASCIMENTO FILHO, V.F.; FERRAZ, E.S.B. Dosimetria de um irradiador e calibração do ponto central da cavidade interna. *Energia Nuclear e Agricultura*, 2:24-37, 1980.
- GAUL, H. Use of induced mutants in seed-propagated species. In: NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. *Mutation and plant breeding*. Washington, 1961. p. 206-251. (Publication, n9891)
- GAUL, H. Sterility. In: IAEA. *Manual on mutation breeding*. 2a. ed. Vienna, 1977. p.96-98.
- SEARS, E. The transfer of leaf-rust resistance from *Aegilops umbellulata* to wheat. *Brookhaven Symposium* (9):1-22, 1956.
- SPARROW, A.H. Types of ionizing radiation and their cytogenetic effects. In: NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. *Mutation and plant breeding*. Washington, 1961. p.55-119. (Publication, n9891)
- TULMANN NETO, A.; ANDO, A.; MENTEN, J.O.M. Obtenção de linhagens melhoradas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) com primeira etapa em estudos de indução de mutações. *Energia Nuclear e Agricultura*, 1:102-107, 1979.
- VAN GASTEL, A.J.G. & DE NETANCOURT, D. The effects of different mutagens on self-incompatibility in *Nicotiana alata* Link and Otto. I- Chronic gamma irradiation. *Radiation Botany*, 14:43-50, 1974.
- YAMAKAWA, K. Effects of chronic gamma radiation on hybridization between *Lycopersicon esculentum* and *L. peruvianum*. *Gamma Field Symposia* (10):11-31, 1971.