

SENSITIVIDADE A RAIOS GAMA DE LINHAGENS E HÍBRIDOS
SIMPLES DE SORGO (*Sorghum bicolor*)

A. TULMANN NETO¹ - R.A. BORGONOV²

A. ANDO³ - J.O.M. MENTEN⁴

R E S U M O

Em trabalhos de indução de mutação, a determinação da sensibilidade ao mutagênico a ser utilizado é etapa preliminar e indispensável. Em trabalho que foi conduzido pelo CNP do Milho e Sorgo com a colaboração do CENA, verificou-se que a linhagem BR 005 mostrou comportamento muito diferente de outros materiais de sorgo, quando da irradiação de sementes com raios-gama. Por isto, resolveu-se realizar um trabalho mais detalhado, incluindo-se tal linhagem. Comparou-se a sensibilidade a raios-gama de 4 linhagens, BR 007-A, BR 005, BR 501 e BR 008-A e de dois híbridos simples de sorgo BR 007-A x BR 005 e BR 501 x BR 008-A. Isto foi realizado através de dois experimentos, analisando-se a redução da altura das plântulas em relação aos controles, não irradiados. No primeiro experimento, as sementes dos seis materiais foram irradiadas com 10, 15 e 20 krad, na fonte de ⁶⁰Co do CENA. Observou-se que o único material que apresentou decréscimo significativo na altura das plântulas foi a linhagem BR 005, já a partir de 10 krad. No segundo experimento, que incluiu apenas as linhagens BR 005, BR 007-A e o híbrido entre elas, as doses foram de 20, 23 e 26 krad. Novamente a linhagem BR 005 foi a mais sensível, enquanto

¹Seção de Radiogenética - CENA/USP. Bolsista do CNPq.

²Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo da EMBRAPA - Sete Lagoas, MG, "in memoriam", a quem é dedicado este trabalho.

³Seção de Radiogenética - CENA/USP e Depto. de Genética - ESALQ/USP. Bolsista do CNPq.

⁴Seção de Radiogenética - CENA/USP e Depto. de Fitopatologia, ESALQ/USP. Bolsista do CNPq.

Recebido em 29/05/86.

Aprovado em 07/08/86.

CENA - BIBLIOTECA

que para BR 007-A não houve decréscimo significativo para a altura das plântulas em nenhuma das doses utilizadas. Para o híbrido entre estas linhagens, não se observou decréscimo em relação ao controle para as doses de 20 e 23 krad, mas tal decréscimo foi observado para 26 krad. São discutidas algumas das causas que podem explicar a maior radiosensibilidade da linhagem BR 005. Baseando-se na reação do híbrido e das linhagens parentais, são feitas também algumas considerações sobre a base genética da radiosensibilidade.

GAMMA-RAY SENSITIVITY OF INBRED LINES AND SINGLE-CROSS
HYBRIDS OF SORGHUM (*Sorghum bicolor*)

S U M M A R Y

In mutation induction experiments, determination of sensitivity to mutagens that will be used is preliminar and indispensable step. In the experiment conducted by CNPMS/EMBRAPA in collaboration with CENA/USP, it was verified that the inbred lines BR 005 showed a very different reaction when the seeds were gamma-irradiated. For this reason one more detailed work including four lines, that is, BR 005, BR 501, BR 007-A and BR 008-A, and 2 single cross hybrids BR 007-A x BR 005 and BR 501 x BR 008-A, was conducted. The work was divided in two experiments, and seedling height reduction to the control without irradiation was analysed. In the first experiment, the seeds of the materials were irradiated with 10, 15 and 20 krad of gamma-rays from the ^{60}Co source of CENA. It was observed that BR 005 was the only one material that reduced significantly its seedling height even with 10 krad. In the second experiment that included only BR 005, BR 007-A and their hybrid, the doses were 20, 23 and 26 krad. Again, BR 005 showed to be most sensitive while BR 007-A did not show any significant reduction of seedling height in all doses. It was observed that the hybrid did not show any reduction in the doses 20 and 23 krad. The reduction was observed only in the treatment with 26 krad.

Discussion was made on possible causes that could explain the highest radiosensitivity of BR 005. Based on the reaction of the hybrid and parental lines, possible genetic base of radiosensitivity was discussed.

1. INTRODUÇÃO

A indução de mutações é uma ferramenta que pode ter bastante utilidade para auxiliar a resolução de certos problemas no melhoramento de plantas. Nestes casos, tanto para o uso de mutagênicos químicos como físicos, é de grande importância a escolha das concentrações ou doses a serem utilizadas. Para mutagênicos físicos por exemplo, quando as sementes são tratadas, vários são os fatores responsáveis pela sensibilidade às radiações, bem como pelas modificações que podem ocorrer em determinados tratamentos (GUSHAN *et alii*, 1975; CONGER *et alii*, 1977). Assim é que fatores ambientais como teor de umidade e temperatura no momento da irradiação, ou fator fisiológico como idade da semente ou fatores biológicos como diferenças genéticas e varietais, podem ser os responsáveis pelas grandes variações observadas na sensibilidade. Tais fatores têm que ser bem conhecidos e controlados (quando possível) pois deles pode depender a escolha mais correta da dose a ser utilizada em trabalhos de indução de mutações e por consequência, até o sucesso ou insucesso da pesquisa.

Para o caso de raios-gama, existem listas como a de CONGER *et alii* (1977) em que se observa a dose que causa 50% de redução no crescimento, em uma série de culturas, bem como as doses mais utilizadas para indução de mutações. Embora esta e outras listas sirvam de ponto de referência, as diferenças na radiosensibilidade em genótipos dentro de uma espécie podem ser grandes. Em feijão por exemplo, TULMANN NETO e ANDO (1971) analisando apenas 8 cultivares plantadas no Brasil, encontraram diferenças de até duas vezes na sensibilidade a raios-gama, comparando-se a LD₅₀ entre as cultivares. Devido a estas diferenças, constitui-se prática comum em trabalhos com indução de mutação para o melhoramento de plantas, a determinação da sensibilidade particular ao material, com o mutagênico a ser utilizado. As vezes, devido à urgên

cia de momento, isto não é feito e o tratamento é baseado em informações de literatura ou experiência anterior com outros genótipos. Neste caso, corre-se o risco de se perder todo o trabalho de plantio das sementes tratadas.

Diante do exposto e devido à pesquisa que foi realizada pelo Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (CNPMS) em cooperação com o CENA, resolveu-se realizar o presente trabalho. O objetivo foi o de se estudar a radiosensibilidade à radiação gama entre 4 linhagens de sorgo e dois de seus híbridos simples.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas sementes das linhagens parentais BR 007-A e BR 005 e de seu híbrido simples BR 300 e das linhagens parentais BR 501 e BR 008-A e de seu híbrido simples BR 602, fornecidas pelo CNPMS. A porcentagem de umidade destes materiais foi determinada colocando-se amostras das sementes em estufa até que se atingisse peso constante.

As sementes foram irradiadas no CENA com raios-gama provenientes do irradiador Gammabeam 650. Foram realizados dois experimentos e nos dois, as sementes foram colocadas no centro do irradiador, a 23 cm dos tubos expositores, utilizando-se a taxa de dose de 378,3 krad/hora. No primeiro experimento, amostras de 100 sementes das 4 linhagens foram irradiadas com 10, 15 e 20 krad e estes materiais, mais os controles não irradiados, foram semeados em caixas com terra, mantidas em casa de vegetação, utilizando-se o delineamento de parcelas subdivididas com 3 repetições (doses como parcelas e materiais como sub-parcelas). A medida da sensibilidade foi feita anotando-se a altura das plantas 15 dias após a emergência.

No segundo experimento, amostras de 50 sementes das linhagens BR 007-A e BR 005 e de seu híbrido BR 300 foram irradiadas com 20, 23 e 26 krad da mesma maneira anterior, utilizando-se para a semeadura o delineamento em blocos ao acaso com 4 repetições. A sensibilidade foi medida da mesma maneira anterior.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como havia sido dito anteriormente, o teor de umidade das sementes é um dos fatores que pode afetar a radiosensitividade, razão pela qual resolveu-se determinar seu valor antes do experimento. Os resultados demonstraram que todos os materiais apresentaram teor de umidade de 10,5%, com exceção da linhagem BR 501 (10,0%). Portanto, pode-se dizer que a porcentagem de umidade foi praticamente a mesma para todos os materiais e não poderia ser responsabilizada por uma eventual diferença na radiosensitividade entre eles.

Os resultados da análise de variância do primeiro experimento encontram-se na Tabela 1. Observa-se que o valor de F foi significativo tanto para dose como materiais e para interação. Este último fato indica portanto que os materiais se comportaram de maneira diferente em relação às doses, existindo portanto, diferenças de radiosensitividade entre eles. O valor significativo para os materiais já era esperado, uma vez que existem linhagens e híbridos simples, esperando-se maior altura para estes. Também seria de se esperar diferenças entre doses, uma vez que o decréscimo na altura de plântula com o acréscimo de dose é típico neste tipo de trabalho.

Para comparação de médias, de acordo com o objetivo do presente trabalho, julgou-se que se as médias das diferentes doses, para um mesmo material, fossem comparadas através do teste Tukey com a média do controle do mesmo material, o conjunto destas comparações serviria para demonstrar a existência de diferença de radiosensitividade entre os materiais. Isto é, procurou-se por exemplo, comparar as médias de altura das plântulas de BR 005 provenientes dos tratamentos com 10, 15 e 20 krad, com a média de BR 005 não irradiado. O mesmo foi feito para os outros 5 tratamentos. As comparações entre as médias da altura das plântulas para as diferentes doses e materiais, medidas aos 15 dias, bem como estas médias em relação aos controles, considerados como 100, encontram-se na Tabela 2. Pode-se concluir que, com exceção da linhagem BR 005, as doses de 10, 15 e 20 krad não afetaram o crescimento dos materiais. Sob este aspecto, o experimento não serviria pa

Tabela 1 - Análise da variância da altura de plântulas de linhagens e híbridos de sorgo provenientes de irradiação de sementes com diferentes doses de raios-gama. Experimento em parcelas sub-divididas com 3 repetições.

Fonte de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	2	38,5257	19,2629	
Doses (D)	3	108,8987	36,2996	9,93**
Resíduo (a)	6	21,9265	3,6544	
(Parcelas)	(11)	(169,3509)		
Materiais (M)	5	579,5281	135,9056	167,29**
Interação (DXM)	15	166,2484	11,0832	13,64**
Subparcelas	41	1.047,6248		

C.V. parcela = 12,00%

C.V. subparcelas = 6,00%

Tabela 2 - Comparações entre as médias da altura* de plântulas de linhagens de linhagens e híbridos simples de sorgo, provenientes de diferentes doses de raios-gama, através do teste Tukey**, a média de cada tratamento foi comparada com a de seu controle não irradiado.

Doses (krad)	L i n h a g e n s		H. Simples:BR 300		L i n h a g e n s		H. Simples:BR 602	
	BR 007-A	BR 005	(BR 007-A x BR 005)		BR 008-A	BR 500	(BR 008-A x BR 500)	
0	12,6 ^a (100,0)	17,3 ^a (100,0)	18,8 ^a (100,0)		17,6 ^a (100,0)	16,0 ^a (100,0)	22,2 ^a (100,0)	
10	13,0 ^a (103,0)	14,4 ^b (83,2)	17,3 ^a (92,0)		17,5 ^a (99,4)	15,6 ^a (97,5)	21,2 ^a (95,5)	
15	13,3 ^a (105,6)	12,1 ^b (69,9)	17,9 ^a (95,2)		17,4 ^a (98,9)	15,6 ^a (97,5)	20,9 ^a (94,1)	
20	11,8 ^a (93,7)	5,0 ^c (28,9)	17,3 ^a (92,0)		15,8 ^a (89,8)	14,3 ^a (89,4)	20,2 ^a (91,0)	

*Números fora dos parênteses indicam altura da plântula em cm. Números dentro dos parênteses, altura em relação aos controles não irradiados, considerados como 100,0.

**Números seguidos pela mesma letra indicam ausência de diferença estatística significativa ao nível de 5% de probabilidade.

ra indicar doses a serem utilizadas em trabalhos práticos de indução de mutação. Isto porque nestes casos, objetiva-se a escolha de doses que causem de 30 a 50% na redução de altura de plântulas da geração M_1 . Entretanto, para a linhagem BR 005, a partir de 15 krad, observou-se um decréscimo na média da altura das plântulas. De fato, nota-se que tal linhagem foi altamente sensível à radiação, podendo-se estimar a dose que causa decréscimo de 50% no crescimento das plântulas como estando situada entre 15 e 20 krad. Para os outros materiais este valor não pode ser estimado, mas é superior a 20 krad.

Os resultados obtidos servem para se ilustrar o que se discutiu no início do presente trabalho. De fato, segundo a lista de CONGER *et alii* (1977), a dose que causa redução de 50% no crescimento, em sorgo, estaria situada entre 35-45 krad. Mas no presente caso, tal valor situa-se entre 15-20 krad para a linhagem BR 005. Fica portanto mais uma vez demonstrada a necessidade de se realizar ensaios preliminares cada vez que se decida utilizar tratamentos com mutagênicos.

Baseando-se no experimento descrito é que se resolveu realizar um segundo incluindo as linhagens BR 005 e BR 007-A e seu híbrido simples BR 602, aumentando-se as doses de radiação.

Os resultados da análise da variância da altura das plântulas aos 15 dias, encontram-se na Tabela 3, onde se observa o valor significativo de F para tratamentos. Na Tabela 4, como no caso anterior, apresentam-se as comparações pelo teste Tukey, das médias dos diferentes tratamentos dentro de um mesmo material, com a média do controle. Observa-se que, à semelhança do caso anterior, já para a menor dose (20 krad) a linhagem BR 005 apresentou grande redução na altura em relação ao controle, enquanto que a linhagem BR 007-A não reduziu significativamente sua altura com o aumento da dose. No caso do híbrido entre estas linhagens, verifica-se que as doses de 20 e 23 krad não resultaram em decréscimo na altura em relação ao controle. Apenas para a dose mais alta (26 krad) isto ocorreu, não sendo entretanto este valor significativamente menor do que para as doses de 23 e 26 krad.

Os resultados apresentados nestes dois experimentos, demonstra

Tabela 3 - Análise da variância da altura de plântulas de linhagens e híbridos simples de sorgo provenientes de irradiação de sementes com diferentes doses de raios-gama. Experimento em blocos ao acaso com 4 repetições.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Blocos	3	26,2792	8,7597	2,32
Tratamentos	11	1707,5702	55,2337	41,21**
Resíduo	33	124,2958	3,7665	
	47	1858,1452		

C.V. = 18,42

Tabela 4 - Comparações entre as médias da altura* de plântulas de linhagens e híbridos simples de sorgo, provenientes de diferentes doses de raios-gama, através do teste Tukey**. A média de cada tratamento foi comparada com a de seu controle não irradiado.

Doses (krad)	Linhagens		H. Simples: BR 300
	BR 007-A	BR 005	(BR 007-A x BR 005)
0	11,0 ^a (100,0)	16,6 ^a (100,0)	18,7 ^a (100,0)
20	8,9 ^a (80,9)	2,4 ^b (14,5)	17,1 ^{a,b} (91,4)
23	9,3 ^a (84,5)	1,7 ^b (10,2)	16,2 ^{a,b} (86,6)
26	9,2 ^a (83,6)	1,3 ^b (7,8)	13,1 ^b (70,1)

*Números fora do parênteses indicam altura em cm, medida 15 dias após a emergência. Número dentro dos parênteses, altura em relação aos controles, não irradiados, considerados como 100,0.

**Números seguidos pela mesma letra, indicam ausência de diferença estatística significativa ao nível de 5% de probabilidade.

ram a existência de diferenças na radiosensitividade em materiais de sorgo, sendo a linhagem BR 005 altamente sensível a raios gama no que se refere à redução na altura da plântula. Tais diferenças foram relatadas para a maioria das espécies estudadas, tais como ervilha (BLIXT, 1972), milho (CONGER, 1976), arroz (FUJI, 1962), bem como em sorgo, em trabalhos de IQBAL (1980), BELO e AYALA OSUNA (1980) e REDDY e SMITH (1983). Em alguns destes trabalhos, os autores observaram que um determinado material poderia ser considerado menos ou mais sensível à radiação, conforme a característica estudada para se anotar a radiosensitividade. Assim é que em sorgo, IQBAL (1980) observou que uma cultivar era a mais sensível com relação à redução na altura da plântula, enquanto que a outra foi mais sensível para redução no número de sementes. Como no presente trabalho só um critério foi utilizado (altura de plântula), convém realçar-se este fato.

Se é fácil a constatação de diferenças varietais na radiosensitividade, não é tão fácil a identificação das razões destas diferenças, bem como de seu controle genético. Sabe-se que no caso de diferentes espécies a radiosensitividade é inversamente correlacionada com o volume nuclear e volume cromossômico interfásico (SPARROW, 1965). Mas no caso de genótipos ou cultivares dentro de uma mesma espécie, esta relação não é sempre mantida (CONGER, 1976; MUKHERJEE e BASU, 1975).

CONGER (1976) cita que nestes casos, possíveis mecanismos para aumento na radiosensitividade incluíram ausência ou baixa concentração de catalase ou peroxidase, enzimas conhecidas como tendo a capacidade de provocar a decomposição de produtos da radiação. Ou ainda a maior radiosensitividade seria devida a uma ausência ou baixa concentração de enzimas reparadoras dos efeitos das radiações.

Em sorgo REDDY e SMITH (1983) atribuem as diferenças na radiosensitividade, a diferenças genéticas específicas e possivelmente a diferenças citoplasmáticas.

Quanto à base genética da sensibilidade à radiação, vários são os trabalhos realizados, em que os autores analisaram o F_1 ou F_2 obtidos pelo cruzamento entre materiais de diferentes radiosensitivida

des. Em ervilha, BLIXT (1972) conclui que nenhum gene que controla especificamente a sensibilidade a raios-gama foi estabelecido, embora reconheça que certos genes que controlam determinadas características exerçam influência na sensibilidade. Ainda este autor conclui que aumento no número de genes recessivos, torna uma variedade mais sensível.

Em soja, TAKAGI (1974) estudando cruzamentos entre variedades resistentes e sensíveis a raios-gama conclui que na maior parte dos casos, a radiosensibilidade é controlada por um único par de genes, sendo a maior resistência dominante.

CONGER (1976), estudando em milho linhagens e seus híbridos, encontrou evidências que a maior sensibilidade seria provavelmente controlada por um ou mais genes recessivos. Mas cita que outros autores relataram casos de sistema poligênico envolvido. EMERY *et alii* (1970) estudando variedades e híbridos de amendoim, concluíram que o F_1 apresentou maior resistência a raios-X do que os parentais. Embora ele não considere que tal fato possa ser explicado por uma simples dominância, reconhece que existem evidências em que a reação de dominância gênica frequentemente está envolvida na herança da radiosensibilidade.

No presente trabalho, estudou-se apenas a geração F_1 envolvendo o cruzamento entre uma linhagem sensível (BR 005) e outra resistente (BR 007-A) às doses de raios-gama utilizadas. Observando-se os resultados dos dois experimentos (Tabelas 2 e 4), verifica-se que para todas as doses utilizadas (10, 15, 20, 23 e 26 krad), a linhagem BR 007-A não apresentou redução de crescimento significativo, comparando-se com o controle, já a linhagem BR 005, mostrou tal redução a partir de 10 krad, enquanto que o F_1 entre elas, mostrou redução de altura em relação ao controle, apenas para a dose mais alta (26 krad). Tais resultados sugerem, como visto na discussão anterior, que uma possível reação de dominância gênica estaria envolvida, sendo a reação de maior sensibilidade da linhagem BR 005, devido a um ou mais genes recessivos. É de interesse notar-se que seja qual for o mecanismo envolvido na maior resistência do híbrido, comparado com a linhagem

BR 005, ele sô funciona até um certo nível de radiação (23 krad, Tabela 4). De fato, para 26 krad, o decréscimo na altura de plântula em relação ao controle, foi significativo, o mesmo acontecendo para a linhagem BR 005, enquanto que a linhagem BR 007-A não mostrou decréscimo significativo. Como se discutiu anteriormente (CONGER, 1976), é possível que enzimas reparadoras dos efeitos das radiações, em doses altas de radiação, não tenham concentração suficiente para agirem.

4. CONCLUSÕES

Estudos baseados na redução da altura de plântula, envolvendo 4 linhagens e dois híbridos de sorgo, demonstraram que uma linhagem (BR 005) foi altamente sensível às doses de raios-gama utilizadas. A reação de maior resistência à radiação do F_1 envolvendo esta linhagem e uma resistente (BR 007-A), indicou que uma reação gênica de dominância pode estar envolvida. Neste caso, a linhagem BR 005 apresentaria gene ou genes recessivos para maior sensibilidade, mas outros experimentos, incluindo o F_2 , são necessários para a confirmação desta indicação. O mecanismo que dá a maior resistência à linhagem BR 007-A, funcionaria mesmo para a dose mais alta utilizada (26 krad), enquanto que para o híbrido entre BR 007-A e BR 005, nesta dose observa-se um decréscimo em relação ao controle.

Mesmo não se podendo chegar a conclusões sobre as razões da maior sensibilidade da linhagem BR 005, mais uma vez fica evidenciada a necessidade de realização de trabalhos preliminares para a escolha da dose, cada vez que se inicie um trabalho prático visando indução de mutação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELO, M. & AYALA OSUNA, J. Efeitos da radiação gama em duas variedades de *Sorghum bicolor* (L.) Moench. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MILHO E SORGO, 13º, Londrina, 1980. *Coletânea de Resumos*. Londrina, IAPAR, 1980. p.54.

- BLIXT, S. Mutation genetics in *Pisum*. *Agri Hortique Genetics*, 30 (ed. especial):1-293, 1972.
- CONGER, B.V. Response of inbred and hybrid maize seed to gamma radiation and fission neutrons and its relationship to nuclear volume. *Environmental and Experimental Botany*, 16:165-170, 1986.
- CONGER, B.V.; KONZAK, C.F.; NILAN, R.A. Radiation sensitivity and modifying factors. In: IAEA. *Manual on mutation breeding*. Vienna, 1977. p.40-43.
- EMERY, D.A.; BOARDMAN, E.G.; STUCKER, R.E. Some observations on the radiosensitivity of certain varietal and hybrid genotypes of cultivated peanuts (*Arachis hypogaea* L.). *Radiation Botany*, 10:267-272, 1970.
- FUJI, T. Radiosensitivity in plants. V. Experiments with several cultivated and wild rices. *Japanese Journal of Breeding*, 16(2):131-136, 1962.
- GUSMAN, A.B.; ANDO, A.; FERRAZ, E.S.B. *Radiossensitividade em sementes*. Piracicaba, CENA, 1975. 40p. (Boletim didático, nº017).
- IQBAL, J. Effects of acute gamma irradiation, development stages and cultivar differences on growth and yield of wheat and sorghum plants. *Environmental and Experimental Botany*, 20(3):219-231, 1980.
- MUKHERJEE, K.K. & BASU, R.K. Radioresistance of experimentally produces hybrid of indian spinach. *Radiation Botany*, 15:411-415, 1975.
- REDDY, C.S. & SMITH, J.P. Varietal differences to gamma radiation in sorghum. I. Seedling growth analysis in M₁ generation. *Indian J. Bot.*, 8(1):83-89, 1983.
- SPARROW, A.H.; SCHAIRER, L.A.; SPARROW, R.C. Relationship between nuclear volumes, chromosome numbers and relative radiosensitivities. *Science*, 141:163-166, 1963.

- TAKAGI, Y. Studies on varietal differences of radiosensitivity in soybean. *Acta Radiobotanica e Genetica*, 3:45-87, 1974.
- TULMANN NETO, A. & ANDO, A. Experimento preliminar para determinar a radiosensitividade do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). In: *Relatório científico do Departamento e Instituto de Genética da ESALQ*, 5. Piracicaba, 1971. p.182-184.