

ALTERAÇÕES NOS CARACTERES DE PLANTAS M₁ DE *Phaseolus vulgaris* DERIVADAS DE SEMENTES TRATADAS COM ETIL-METANOSSULFONATO^{1/}

José Eustáquio de S. Carneiro^{2/}

Hélio M. Barbosa^{3/}

Clibas Vieira^{4/}

Antônio A. Cardoso^{4/}

1. INTRODUÇÃO

O tratamento de sementes com agentes mutagênicos, além de induzir mutações e aberrações cromossômicas, provoca danos fisiológicos (4). Esses efeitos prejudiciais e imediatos dos mutagênicos na geração M₁ são, geralmente, avaliados por meio da porcentagem de germinação das sementes tratadas, altura e sobrevivência das plantas. Segundo GAUL (4), há uma correlação negativa entre a altura ou sobrevivência das plantas M₁ e a porcentagem de mutações induzidas. Desse modo, a intensidade dos danos fisiológicos serve de indicativo para que se possa determinar a concentração ou dose de mutagênico a ser aplicada.

O etil-metanossulfonato (EMS) é um dos agentes mutagênicos mais comumente utilizados na indução de mutações em plantas (5, 6, 8, 13). Isso se deve, entre outras razões, à sua alta eficiência (3, 5, 7, 11) e ao fato de produzir relativamente poucas aberrações cromossômicas grosseiras (5, 11, 14).

^{1/} Parte da tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, pelo primeiro autor, como um dos requisitos para a obtenção do grau de Magister Scientiae.

Aceito para publicação em 11-3-1987.

^{2/} EMBRAPA/CNPAP. Caixa Postal 179, 74000 Goiânia, GO.

^{3/} Departamento de Biologia Geral da UFV. 36570 Viçosa, MG.

^{4/} Departamento de Fitotecnia da UFV. 36570 Viçosa, MG.

No presente trabalho, determinaram-se os danos produzidos por diferentes concentrações de EMS sobre vários caracteres das plantas da geração M_1 de uma variedade produtiva de feijão, cuja cor do tegumento se pretende modificar por meio da indução de mutações.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O cultivar Milionário 1732, com sementes de tegumento preto, utilizado neste estudo, foi lançado por VIEIRA *et alii* (16). Sementes secas (com aproximadamente 14% de umidade) foram colocadas em placas de germinação, entre papéis de filtro umedecidos, e levadas ao germinador, à temperatura de 28°C, por um período de 24 horas. Em seguida, foram formados cinco grupos, de 300 sementes cada um, usando-se as que apresentavam, aparentemente, boas condições de germinação. Quatro grupos foram transferidos, individualmente, para as respectivas soluções recém-preparadas de EMS, nas concentrações de 0,0625, 0,125, 0,25 e 0,5% (v/v). As soluções de EMS foram preparadas em tampão fosfato, 0,02M e pH 7,0. Um quinto grupo de 300 sementes foi submetido apenas à solução tampão, constituindo o controle. Cada grupo de sementes foi colocado em frasco Erlenmeyer de 500 ml, juntamente com 200 ml da respectiva solução, isto é, cerca de 2,5 vezes o volume das sementes. Os frascos foram vedados com papel laminado e submetidos à agitação em agitador «Burrell Wrist-Action», durante seis horas, à temperatura ambiente ($\pm 24^\circ\text{C}$). Realizado o tratamento, as sementes foram lavadas em água corrente, de torneira, e, logo após, plantadas no campo experimental do Setor de Genética da Universidade Federal de Viçosa.

Utilizou-se o delineamento experimental em blocos ao acaso, com seis repetições. Cada parcela foi constituída de duas fileiras de 5m de comprimento, espaçadas de 0,60m entre si. Dentro das fileiras, as sementes foram espaçadas de 0,20m.

Foram registrados os seguintes dados: porcentagem de germinação (aos oito dias após a semeadura), altura das plantas (aos 15, 30, 45 e 60 dias), número de plantas sobreviventes por ocasião da colheita, número de vagens por planta, número de sementes por vagem e produção de grãos. A trilhagem individual das plantas possibilitou o exame da cor do tegumento das sementes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O exame da Figura 1 permite verificar que o aumento da concentração de EMS reduziu a porcentagem de germinação e a sobrevivência das plantas. Resultados semelhantes foram obtidos por outros autores, após tratarem sementes de colza (*Brassica napus*) (2), milho (12) e feijão (9, 15) com o mesmo mutagênico. Nota-se que a porcentagem de plantas sobreviventes de cada tratamento, especialmente para concentrações de EMS iguais ou superiores a 0,25%, foi superior à porcentagem de sementes germinadas aos 8 dias, o que indica que o mutagênico retardou a germinação das sementes. Esse retardamento cresceu com o aumento de concentração de EMS.

A redução na sobrevivência e o atraso no crescimento das plantas são, segundo GAUL (4), e do ponto de vista prático, os principais efeitos diretos dos mutagênicos. Os dados sobre altura das plantas aos 15, 30, 45 e 60 dias (Fig. 2) indicam que houve redução na altura das plantas à medida que se elevou a concentração do EMS. A altura das plantas provenientes de sementes tratadas com concentrações mais baixas (até 0,125%), de início menor que a das plantas do controle, aproximou-se da altura destas quando aquelas se desenvolveram. A recuperação das

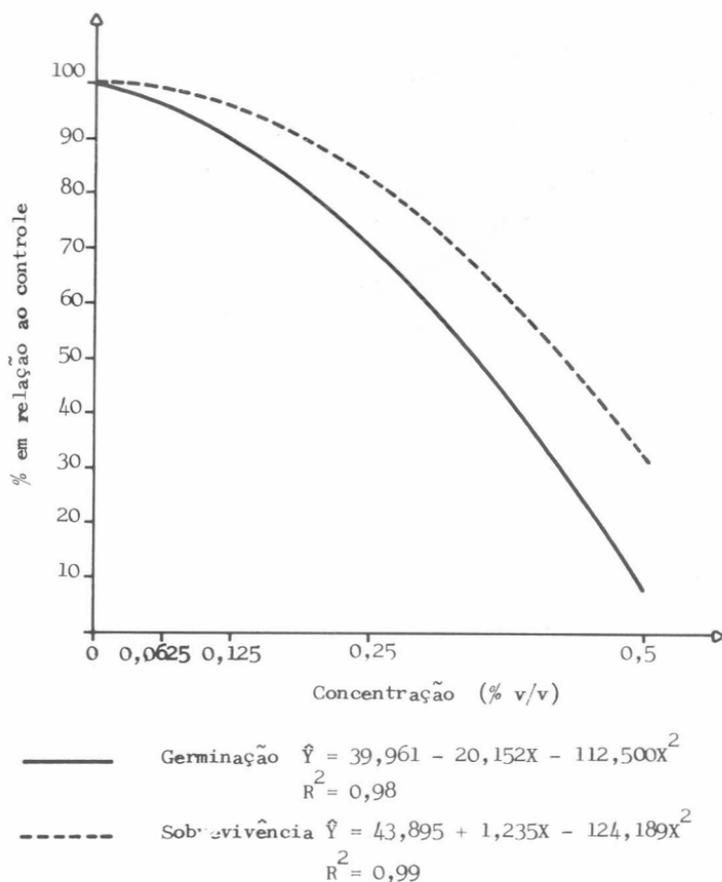
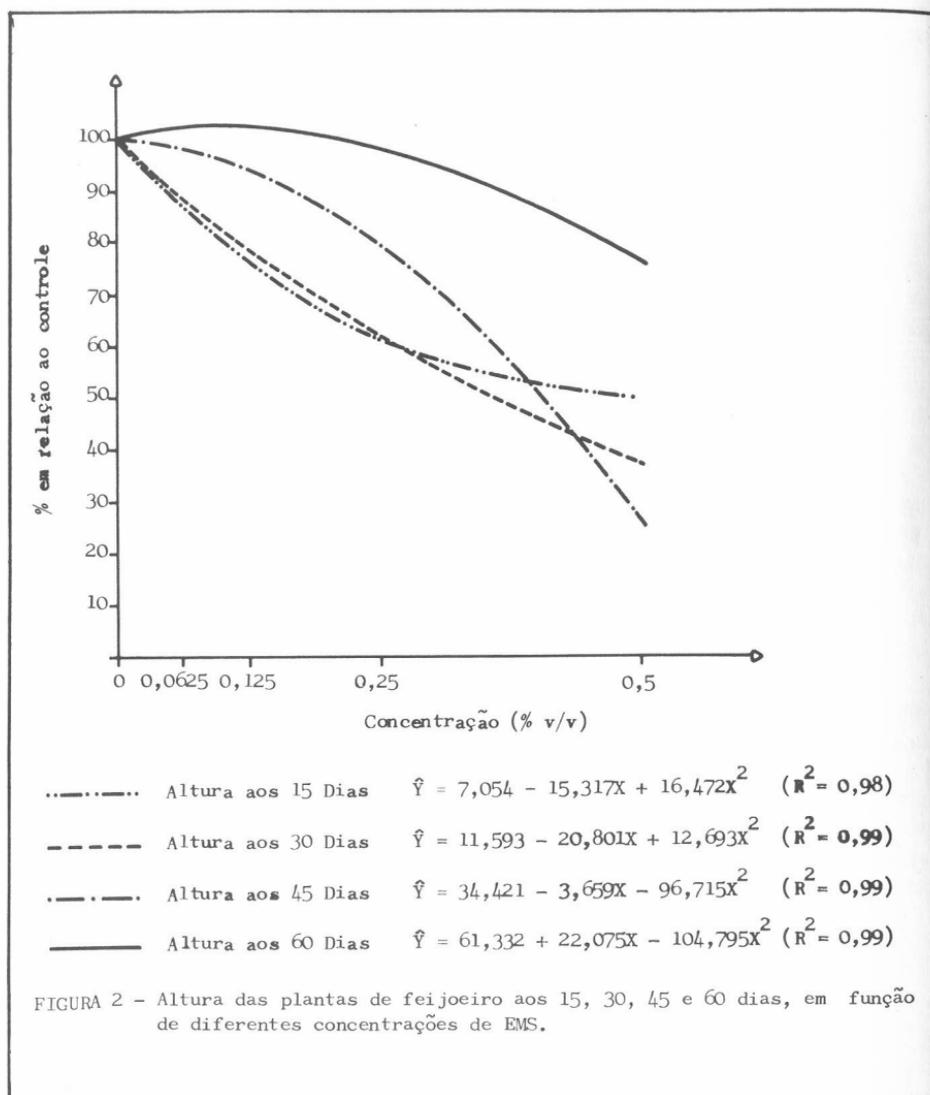


FIGURA 1 - Germinação de sementes e sobrevivência de plantas de feijoeiro, em função de diferentes concentrações de EMS.

plantas era mais lenta à medida que a concentração do EMS aumentava. Esse fato influenciou a época da colheita, que foi retardada nos tratamentos com concentrações mais elevadas do mutagênico.

O padrão de decréscimo na altura das plantas em estádios ontogenéticos diferentes, considerando diferentes concentrações de EMS (Fig. 2), é resultado, principalmente, de dois fatores: (a) recuperação, pelas plantas, dos danos fisiológicos menos severos, ocasionados pelas baixas concentrações de EMS, e (b) menor porcentagem de sobrevivência de plantas derivadas de sementes tratadas com concentrações mais elevadas (Fig. 1). Por exemplo, para a concentração de 0,5%, a Figura 2 apresenta uma diferença muito acentuada de crescimento dos 45 aos 60



dias. Essa diferença é explicada pela morte de plantas raquíticas, que foram medidas aos 45 dias, mas não sobreviveram até os 60 dias. Como se observa na Figura 1, com a concentração de 0,5% a porcentagem de sobrevivência, em relação ao controle, foi de apenas 30%.

Os dados relativos ao número de sementes por vagem e à produção de grãos, conforme as diferentes concentrações de EMS, são apresentados na Figura 3. O aumento da concentração de EMS provocou decréscimo de ambos os caracteres. Entretanto, o número de sementes por vagem foi muito menos afetado pelo aumento da concentração do mutagênico do que a produção de grãos. Enquanto a concentração mais elevada (0,5%) reduziu de 30% o número de sementes por vagem, em relação ao controle, a produção foi reduzida de 80%.

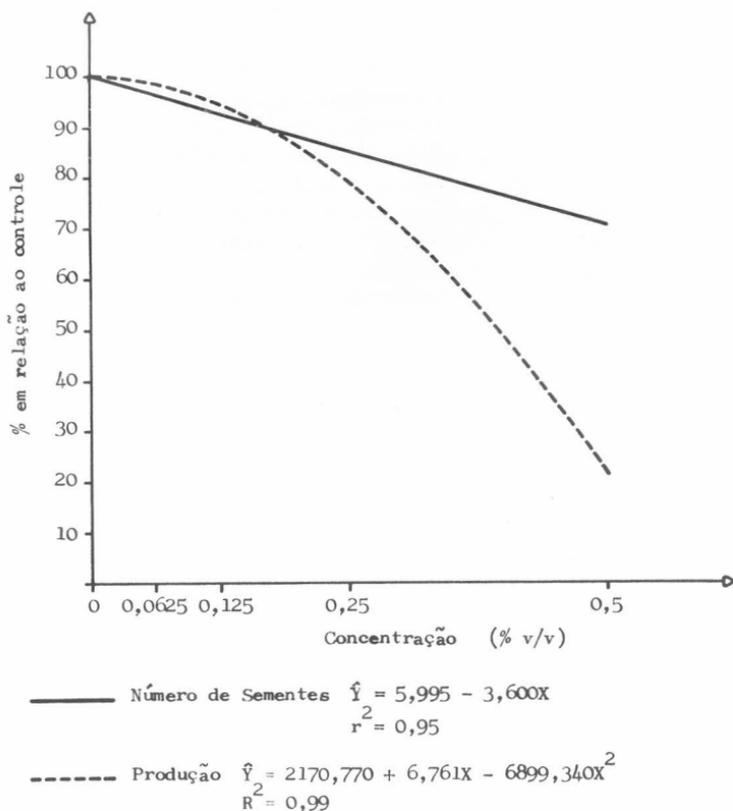


FIGURA 3 - Número de sementes por vagem e produção de grãos de feijoeiro, em função de diferentes concentrações de EMS.

O número de vagens por planta variou com o aumento da concentração de EMS. Para as concentrações de 0 (controle), 0,0625, 0,125, 0,25 e 0,5%, o número de vagens por planta foi, respectivamente, de 27,6, 27,8, 28,4, 34,4 e 31,0. Todavia, observou-se redução no tamanho das vagens, muitas das quais não produziram grãos normais com o aumento da concentração de EMS.

Não foi observada nenhuma planta que apresentasse variação no cor do hipocótilo ou da flor. Entretanto, os tratamentos com as concentrações de 0,125 e 0,25% produziram, cada um deles, uma planta com alguns grãos de tegumento «mulatinho», e o tratamento 0,0625% produziu uma planta com alguns grãos de cor marrom-amarelada. Como a grande maioria das mutações é recessiva (6), os mutantes induzidos geralmente não são detectados na geração M_1 . Portanto, ocor-

rências como estas são muito raras. Em feijão, modificações na cor do tegumento na geração M_1 (sementes M_2) foram também relatadas por CARNEIRO *et alii* (1), que trataram sementes da mesma variedade utilizada neste trabalho com radiação gama. Os autores eliminaram a possibilidade de mistura de sementes e explicaram a ocorrência dessas variações como, possivelmente, consequência da ação simultânea da radiação em ambos os cromossomos homólogos de uma célula que originou o setor mutante da planta M_1 . A mistura de sementes também é descartada neste trabalho, pois ambos os experimentos foram realizados na mesma ocasião e no mesmo campo experimental. JAIN *et alii* (10), ao testarem a ação mutagênica da hidrazina em sementes de tomate, obtiveram mutantes recessivos em alguns «loci» diferentes na geração M_1 , o que indica alta sensibilidade de alguns genes ao mutagênico. As variações na cor do tegumento do feijão, descritas por CARNEIRO *et alii* (1) em experimento com radiação gama, e agora com EMS, são interessantes e indicam a necessidade de novos estudos, não apenas para verificar a repetibilidade de tais ocorrências, como também para encontrar uma explicação conclusiva para elas.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

No curso de uma pesquisa, visando modificar a cor preta do tegumento da semente da variedade de feijão Milionário 1732, sementes colocadas para germinar durante 24 horas foram tratadas com 0 (controle), 0,0625, 0,125, 0,25 e 0,5% (v/v) de EMS. Foram estudados os efeitos imediatos do mutagênico nas plantas M_1 .

O aumento da concentração do EMS reduziu as porcentagens de germinação e de sobrevivência, a altura das plantas, o número de sementes por vagem e a produção. O número de vagens, por planta não sofreu redução, mas o tamanho das vagens foi diminuído.

Modificações na cor do tegumento de várias sementes M_2 foram observadas em três plantas M_1 , tendo-se excluído a mistura de sementes como possível causa dessa ocorrência. Tais ocorrências, muito raras, são explicadas como originárias da ação do EMS em ambos os homólogos de uma célula que originou o setor mutante da planta. Entretanto, os autores reconhecem a necessidade de estudos adicionais, objetivando determinar a repetibilidade de tais eventos e uma explicação conclusiva para eles.

5. SUMMARY

(EFFECTS OF ETHYL METHANE SULFONATE ON THE M_1
GENERATION OF *Phaseolus vulgaris* CV.
MILIONÁRIO 1732)

Seeds of *Phaseolus vulgaris* cv. Milionário 1732 were treated with ethyl methanesulfonate (EMS) solutions with the following concentrations: 0 (control), 0.0625, 0.125, 0.25, and 0.5% (v/v). Increased concentrations of EMS reduced percentage of germination, survival, plant height, number of seeds per pod and yield. The number of pods per plant was not reduced, but pod size decreased.

Changes in seed coat color occurred in three M_1 plants. Seed mixture as a possible cause was discarded. Such rare events were explained as being due to the action of the mutagen on both homologous chromosomes of a cell primordia which originated the mutated sector of each M_1 plant.

6. LITERATURA CITADA

1. CARNEIRO, J.E.S.; BARBOSA, H.M.; CARDOSO, A.A. & VIEIRA, C. Sensibilidade à radiação gama de sementes de *Phaseolus vulgaris* L., cv. Milionário 1732. *Rev. Ceres* 34:306-312. 1987.
2. FOWLER, D.B. & STEFANSSON, B.R. Effects of the mutagenic agent ethyl methanesulfonate on the M₁ generation of rape (*Brassica napus*). *Can. J. Plant Sci.* 52:53-62. 1972.
3. FROEZE-GERTZEN, E.E.; KONZAK, C.F.; FOSTER, R. & NILAN, R.A. Correlation between some chemical and biological reactions of ethyl methane sulfonate. *Nature* 198:447-448. 1963.
4. GAUL, H. Mutagen effects observable in the first generation: Plant injury and lethality. In: International Atomic Energy Agency (ed.). *Manual on Mutation Breeding*. Vienna, 1970, p. 85-90. (Tech. Reports Series no. 119).
5. GAUL, H.; FRIMMEL, G.; GICHNER, T. & ULONSKA, E. Efficiency of mutagenesis, In: International Atomic Energy Agency (ed.). *Induced Mutations and Plant Improvement*. Vienna, 1972. p. 121-139.
6. GOTTSCHALK, W. & WOLFF, F. *Induced Mutations in Plant Breeding*. Berlin, Springer-Verlag, 1983. 238 p. (Monographs on Theoretical and Applied Genetics 7).
7. GREGORY, W.C. Mutation breeding. In: Frey, K.J. (ed.). *Plant Breeding*. Ames, Iowa, Iowa State Univ. Press., 1966. p. 189-218.
8. HESLOT, H. Chemical mutagens: Review of main mutagenic compounds. In: International Atomic Energy Agency (ed.). *Manual on Mutation Breeding*. Vienna, 1970. p. 53-62. (Tech. Reports Series no. 119).
9. HUSSEIN, H.A.S. & DISOUKI, I.A.M. Mutation breeding experiments in *Phaseolus vulgaris* (L.). I. EMS and gamma-ray-induced seed coat colour mutants. *Z. Pflanzenzüchtg.* 76:190-199. 1976.
10. JAIN, H.K.; KHAMANKAR, Y.G. & SHUKLA, P.T. Studies on mutation rates and range with base specific chemicals. In: International Atomic Energy Agency (ed.). *Induced Mutations in Plants*. Vienna, 1969. p. 251-258.
11. KAWAI, T. Relative effectiveness of physical and chemical mutagens. In: International Atomic Energy Agency (ed.). *Induced Mutations in Plants*. Vienna, 1969. p. 137-151.
12. LEITE, A.C.S. & BARBOSA, H.M. Indução de mutação em milho (*Zea mays* L.) opaco-2 por etil-metanossulfonato. *Rev. Ceres* 29:210-221. 1982.
13. NARAYANAN, K.R. & KONZAK, C.F. Influence of chemical and post-treatments on the mutagenic efficiency of alkylating agents. In: International Atomic Energy Agency (ed.). *Induced Mutations in Plants*. Vienna, 1969. p. 281-304.

14. NILAN, R.A. Mutagenic specificity in flowering plants: facts and prospects. In: International Atomic Energy Agency (ed.). *Induced Mutations and Plant Improvement*. Vienna, 1972. p. 141-150.
15. TULMANN NETO, A. *Obtenção de resistência ou tolerância ao vírus do mosaico dourado do feijoeiro (Phaseolus vulgaris L.) através de indução de mutação*. Piracicaba, ESALQ/SP, 1979. 119 p. (Tese de Livre Docência).
16. VIEIRA, C.; SILVA, C.C.; ARAÚJO, G.A.A. & CHAGAS, J.M. 'Milionário 1732' e 'Rico 1735', novas variedades de feijão preto para Minas Gerais. Belo Horizonte, EPAMIG, 1983. 2 p. (Pesquisando, 98).