

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS ITAQUI
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**RESPOSTA DA INDUÇÃO MUTAGÊNICA COM AZIDA SÓDICA
EM AVEIA PRETA**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Cássio Silva Lucas

Itaqui, RS, Brasil

2017

CÁSSIO SILVA LUCAS

**RESPOSTA DA INDUÇÃO MUTAGÊNICA COM AZIDA SÓDICA
EM AVEIA PRETA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Engenheiro Agrônomo**.

Orientador: Guilherme Ribeiro

Itaqui, RS, Brasil

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

L993r Lucas, Cássio.
Resposta da indução mutagênica com azida sódica em aveia
preta/ Cássio Lucas.
22 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Agronomia)
Universidade Federal do Pampa, AGRONOMIA, 2017.
“Orientação: Guilherme Ribeiro”.

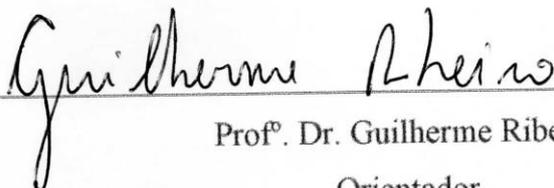
1. Indução de mutação. 2. Variabilidade genética. 3. *Avena
strigosa*. 4. Aveia preta. I. Título.

CÁSSIO SILVA LUCAS

**RESPOSTA DA INDUÇÃO MUTAGÊNICA COM AZIDA SÓDICA
EM AVEIA PRETA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para obtenção do grau de **Engenheiro Agrônomo**.

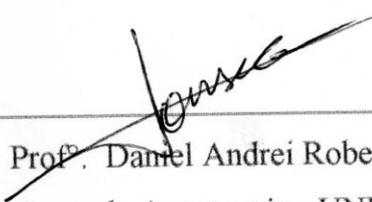
Trabalho de conclusão de curso defendido e aprovado em:
Banca examinadora:



Prof.^o Dr. Guilherme Ribeiro

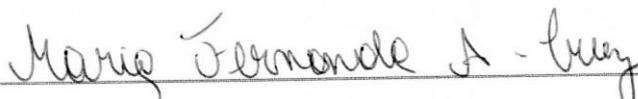
Orientador

Curso de Agronomia - UNIPAMPA



Prof.^o Daniel Andrei Robe Fonseca

Curso de Agronomia - UNIPAMPA



Prof.^o Dr.^a Maria Fernanda Antunes da Cruz

Curso de Agronomia - UNIPAMPA

DEDICATÓRIA,

A minha esposa Marília e filha Victória,
suportes da minha vida, fontes inesgotáveis de
compreensão e apoio.

Dedico, com amor.

RESUMO

RESPOSTA DA INDUÇÃO MUTAGÊNICA COM AZIDA SÓDICA EM AVEIA PRETA

Autor: Cássio Silva Lucas

Orientador: Guilherme Ribeiro

Local e data: Itaquí, 05 de dezembro de 2017

A aveia preta (*Avena strigosa* Schreb) é uma das principais alternativas durante a estação de inverno, principalmente na região Sul do Brasil. A área cultivada cresce em consequência da crescente adoção da semeadura direta, rotação de culturas e sistemas de pastagens. A base genética da cultura é estreita, para ampliar a variabilidade genética uma alternativa é a utilização dos agentes mutagênicos, visando selecionar genótipos com caracteres agronômicos superiores. O presente trabalho teve o objetivo de avaliar a indução gênica dos efeitos mutagênicos da azida sódica (AS) em diferentes doses e períodos nas fases de germinação da aveia preta. O trabalho foi desenvolvido nos laboratórios de análises de Alimentos e de Sementes do curso de Agronomia da Universidade Federal do Pampa. Foi utilizada a cultivar Agro Esteio. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial (5x6), com cinco doses (0,0; 1,0; 1,5; e 2,0 mM de AS) e seis momentos (0; 5; 9; 22; 35; e 39 horas) de aplicação, com duas repetições. As sementes foram previamente embebidas em água destilada, e posteriormente tratadas com AS por duas horas, foram lavadas e distribuídas em papéis germiteste. As sementes foram acondicionadas em câmara de crescimento (germinador) a 20° C e fotoperíodo controlado de 12 horas. Foram avaliados os caracteres de germinação, comprimento parte aérea e comprimento de raiz. Foi possível avaliar o efeito da Azida Sódica como agente mutagênico na aveia preta nas doses e momentos distintos de aplicação. O uso do mutante provocou redução no comprimento de raiz. A dose de 0,5 mM de AS é adequada para criação de variabilidade genética na cultura. A AS teve efeito perante a aveia preta quando aplicada às 5 horas na dose de 1,5 mM mostrando-se promissor na indução de mutação, uma vez que maximizou a germinação, incrementou o comprimento de parte aérea e reduziu pouco o comprimento de raiz.

Palavras-chave: Indução de mutação, Variabilidade genética, *Avena strigosa*.

ABSTRACT

RESPONSE OF MUTAGENIC INDUCTION WITH SODIUM AZIDA IN BLACK HONEY

Author: Cássio Silva Lucas

Advisor: Guilherme Ribeiro

Local and date: Itaqui, December 05, 2017

Black oats (*Avena strigosa* Schreb) are one of the main alternatives during the winter season, mainly in the southern region of Brazil. The area under cultivation grows as a consequence of the increasing adoption of direct seeding, crop rotation and pasture systems. The genetic basis of the crop is narrow, to expand genetic variability an alternative is the use of mutagenic agents, in order to select genotypes with superior agronomic characteristics. The present work had the objective to evaluate the gene induction of mutagenic effects of sodium azide (AS) at different doses and periods in the germination phases of black oats. The work was developed in the laboratory of Food and Seed Analysis of the Agronomy course of the Federal University of Pampa. The cultivar Agro Esteio was used. The experimental design was completely randomized in a factorial scheme (5x6), with five doses (0,0, 1,0, 1,5 and 2,0 mM AS) and six moments (0, 5, 9, 22 ; 35; and 39 hours) of application, with two replicates. The seeds were previously soaked in distilled water, and then treated with AS for two hours, then washed and distributed in germiteste paper. They were conditioned in a growth chamber (germinator) at 20° C and a controlled photoperiod of 12 hours. The characteristics of germination, shoot length and root length were evaluated. It was possible to evaluate the effect of Sodium Azide as mutagenic agent in black oats at different doses and times of application. The use of the mutant caused reduction in root length. The 0.5 mM dose of AS is suitable for creating genetic variability in the culture. The AS had an effect on black oats when treated in 5 hours at a dose of 1.5 mM showing promising induction of mutation, since it maximized germination, increased shoot length and reduced root length.

Keywords: Mutation induction, Genetic variability, *Avena strigosa*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Curva de embebição de sementes de aveia preta, cultivar Agro Esteio.....14
- Figura 2:** Contagem de emissão de radícula após estabilizar peso das sementes.....14
- Figura 3:** Pesagem do agente para solução (a), medição do pH no preparo de soluções em capela (b), sementes tratadas com o mutagênico nas diferentes concentrações e devidos suportes (c) e plântulas selecionadas para mensuração das variáveis (d).....16

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Comparação de médias para a variável germinação, em %, em diferentes doses (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mM) e tempo (0; 5; 9; 22; 35; e 39 h) em aveia preta. Itaqui/RS, 2017.....17

Tabela 2: Comparação de médias para a variável comprimento parte aérea, em cm, em diferentes doses (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mM) e tempo (0; 5; 9; 22; 35; e 39 h) em aveia preta. Itaqui/RS, 2017.....18

Tabela 3: Comparação de médias para a variável comprimento de raiz, em cm, em diferentes doses (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mM) e tempo (0; 5; 9; 22; 35; e 39 h) em aveia preta. Itaqui/RS, 2017.....18

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
4 CONCLUSÃO.....	20
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21

1 INTRODUÇÃO

A aveia preta (*Avena strigosa* Schreb) é uma gramínea de clima temperado, sua cultura é de suma importância na integração lavoura-pecuária, implantação de pastagem, produção de feno e silagem, tem papel fundamental na rotação de culturas, incremento de cobertura morta perante sua taxa de palhada para o plantio direto (FONTANELI et al., 2012). Em consequência deste manejo, ocorrem benefícios nas propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, também rompe ciclos de patógenos, diminui a incidência de pragas, e tem efeito supressor alelopático reduzindo o índice de plantas daninhas (BARROS, 2013).

Segundo Moliterno (2008), a aveia preta tem sido muito importante como espécie produtora de um volume considerável de biomassa para cobrir o solo durante seu ciclo, é pouco exigente em fertilidade de solo e de boa adaptação em diferentes regiões dos estados de Paraná (PR), Santa Catarina (SC) e Rio Grande do Sul (RS). Dados estatísticos para a área semeada no ano de 2001 (Abrasem, 2017) foi de 2,5 milhões de hectares no RS, em relação ao ano de 2014 houve um aumento de 54% de área semeada de aveia preta, estimado em 3, 85 milhões de hectares. Levando em consideração os dados de levantamento realizado pela Conab (2017), a estimativa de área semeada para a cultura da soja é de 11,87 milhões de hectares na região Sul. Sabe-se que a maioria dos produtores já estão adequados ao sistema plantio direto e utilizam a aveia preta como cultura antecessora, para esta rotação, em torno de 50% desta podendo estimar em 6 milhões de hectares de aveia preta semeada neste ano de 2017. A expressão da aveia preta no mercado abriu leques para trabalhos de pesquisa intensificando programas de melhoramento com algumas instituições públicas e privadas, em razão das poucas cultivares, e variedades sem identidade genética (SILVEIRA et al., 2010).

A obtenção de plantas superiores, teve início com a domesticação que ocorreu de forma inusitada pelo homem, crucial para os avanços em pesquisa, através da seleção das mesmas de maneira consciente, e obtendo as populações de interesse conforme as características desejáveis em variados componentes, regido de adaptações perante as variáveis tempo e espaço em consequência do ambiente (MACHADO, 2014). Sabendo que a aveia preta tem uma base genética estreita para obtenção de plantas superiores (CARVALHO & FEDERIZZI, 1989), pode-se ampliar a variabilidade genética a partir de meios técnicos como indução de mutações para obtenção de genótipos que, possam ser selecionados e posteriormente avaliados através de ensaios (VEIGA et al., 1978). A mutação induzida tem sido mais utilizada para elevar as frequências de mutações e variações que podem ser induzidas tanto por tratamento com mutagênicos químicos como radiações ionizantes (PREDIERI, 2001).

Os mutagênicos químicos, na maioria das ocorrências nas mutações levam à substituição de pares de bases por transição de nucleotídeos Guanina: Citocina (GC) para Adenina: Timina (AT), resultando em alterações de aminoácidos, que mudam as funções das proteínas, mas não abole suas funções como deleções ou mutações de mudança de quadro (UKWUBILE & NATHANIE, 2014). Os mutantes assim produzidos facilitam a seleção e identificação, e podem ser utilizados na criação de culturas com rendimento melhorado e características de qualidade (AHLOOWALIA & MALUSZYNSKI, 2001). A azida sódica (NaN_3) é um mutagênico químico, considerado um dos agentes mais eficientes para os programas de melhoramento de plantas, por melhorar o rendimento, características de qualidade e criar resistência ou tolerância contra estresses bióticos e abióticos (KAHN et al., 2009a).

Segundo Gruszka et al. (2011), o agente químico azida sódica é um mutagênico gerador de gás nitrogênio industrial podendo causar mutações em plantas agindo na transcrição e replicação do DNA durante o processo de germinação das sementes, provocando alterações a nível de gene, cromossomo ou genoma, acarretando em variabilidade genética onde o melhorista deve selecionar os mutantes a partir dos caracteres agrônômicos desejáveis. A mutagenicidade da azida de sódio é mediada pela produção de um metabolito orgânico de azida e altamente dependente do pH ácido (KLEINHOFES et al., 1978). Com baixo valor de pH, a quantidade de azida de sódio dissociada do ácido hidrazoico que são teoricamente muitas vezes maior (a pH 3 há aproximadamente 19 vezes mais ácido hidrazoico do que a pH 6, para a mesma concentração de azida de sódio), e essa seria a condição para melhor penetração através da membrana celular (NILAN et al., 1973). Segundo Mensah et al., (2007) é o mutagênico mais eficiente em estudos realizados com cevada e tornou-se o agente de escolha para a indução de mutantes devido à facilidade com que o agente químico é aplicado em sementes, apresenta alta solubilidade em água, por ser um sólido em pó, é mais seguro e prático de manipular as soluções e de baixo custo.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a indução gênica dos efeitos mutagênicos da azida sódica em diferentes doses e períodos nas fases de germinação da aveia preta.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido nos laboratórios de Alimentos e de Sementes do curso de Agronomia da Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA, Campus Itaqui (RS), no período que compreende entre março a agosto do ano de 2017.

O genótipo utilizado foi a cultivar Agro Esteio, proveniente das variabilidades genéticas obtidas pelas técnicas de cruzamento com hibridação artificial, em um programa de melhoramento genético pela fundação Pró-Sementes juntamente com o grupo Agroalpha e parceria de pesquisadores da UFPel, estes que deram origem para obtenção das primeiras sementes de aveia preta com certificação perante a Lei 9456, da Proteção de Cultivares (AGROALPHA, 2017).

Inicialmente realizou-se o teste de germinação das sementes de aveia preta conforme as Regras de Análises de Sementes (2009), com a finalidade de avaliar seu poder germinativo. Com uma balança de precisão foi mensurado quatro papéis germiteste, estabelecendo seu peso, logo multiplicado pelo fator 2,5 obtendo a quantidade de água a ser utilizada para umedecer os mesmos, utilizando 100 sementes e 2 repetições.

Posteriormente foi determinada a curva de embebição das sementes, para em função deste identificar as três fases do período de germinação. Foram pesadas 200 sementes para 4 repetições, utilizando o 'gerbox' e adicionado ao fundo deste recipiente uma lâmina d'água e acima, uma tela revestida com papel germiteste umedecido com as sementes sobrepostas, assim evitando o contato direto com água e dando condições para protrusão da radícula. Nas primeiras seis horas foram mensuradas a cada meia hora o peso das sementes, as mesmas eram secadas, pesadas e depositadas de volta ao recipiente descrito anteriormente, realizando seguidamente o protocolo para cada hora, o peso das sementes somente estabeleceu depois de 39,5 horas (Figura 1), e ao término da estabilização mais de 50% das sementes já estavam nesta condição (Figura 2).

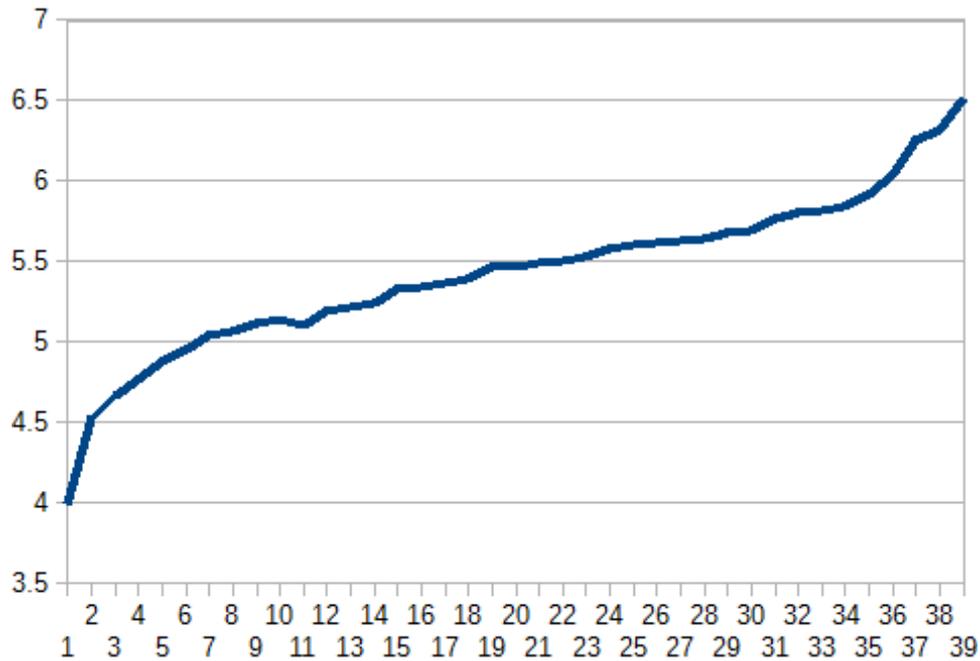


Figura 1. Curva de embebição de sementes de aveia preta, cultivar Agro Esteio.



Figura 2. Contagem de emissão de radícula após estabilizar peso das sementes.

Definida a curva, foi possível designar os momentos de aplicação do produto mutagênico, sendo elas no início da fase I (0 hora), final da fase I (5 horas), início da fase II (9 horas), metade da fase II (22 horas), início da fase III (35 horas) e final da fase III (39 horas) e testados em cinco doses do mutagênico (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mM).

Para fazer a concentração do produto mutagênico de azida sódica (AS), foram necessários 0,026 g de AS (Figura 3a) conforme seu peso molecular para a quantidade de solução necessária. Com o uso dos equipamentos de proteção individual, uma balança de precisão fechada e vidrarias, foi pesado a quantidade de AS e posteriormente manejado em

uma capela, este diluído em 200 mL de água destilada obtendo a solução concentrada para as diluições das doses, o pH do meio para melhor atuação do agente químico foi ajustado para 3,0, a solução tampão regulada com ácido clorídrico, com o auxílio do pHmetro (Figura 3b). Para a dose de 2 mM pipeta-se 75 mL da solução mãe e posterior coloca-se em um béquer, a dose de 1,5 mM pipetou-se 56,25 mL da solução mãe e com 18,75 mL de água destilada completou-se a concentração no béquer, para a dose 1 mM foi pipetado 37,5 mL da solução mãe e completou com a mesma quantidade de água destilada em um béquer, e para a dose 0,5 mM pipetou-se 18,7 mL da solução mãe e com 56,25 mL de água destilada para completar a solução em um béquer.

As sementes formam previamente embebidas conforme o protocolo dos momentos de aplicação do AS e para cada tratamento foram utilizadas 200 sementes acondicionadas em sachês de nylon, etiquetados conforme as doses (Figura 3c), e imersos em cada concentração descrita acima. Durante duas horas em contato com a solução, e em seguida as mesmas foram lavadas em água corrente por um período de uma hora para retirada do excesso da solução contendo o AS. Depois desta etapa as sementes foram distribuídas em papéis germisteste, previamente umedecidas em uma proporção de 2,5 vezes o peso dos mesmos, usando duas folhas para 100 sementes de cada repetição. Em rolos e ensacados com identificação, as sementes foram mantidas em uma câmara de crescimento (germinador) com temperatura de 20° C e fotoperíodo controlado de 12 horas.



Figura 3. Pesagem do agente para solução (a), medição do pH no preparo de soluções em capela (b), sementes tratadas com o mutagênico nas diferentes concentrações e devidos suportes (c) e plântulas selecionadas para mensuração das variáveis (d).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial (5x6), com cinco doses (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mM) distintas em seis momentos (0 h; 5 h; 9 h; 22 h; 35 h; e 39 h) de aplicação do AS, com duas repetições de 100 sementes. A variável contagem percentual de germinação (PG) foi realizada em cinco dias após semeadura no germisteste, e posterior dez dias de incubação em B.O.D. foi realizado as análises perante a variável PG, comprimento de raiz (CR) e comprimento da parte aérea (CPA) de acordo com o critério padrão de germinação da espécie perante as Regras para Análises de Sementes (2009), onde a unidade de observação constituiu-se de 10 plântulas (Figura 3d) por unidade experimental, obtendo as médias de cada repetição.

Os dados foram submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de Scott e Knott com nível de probabilidade de 5%, através do programa estatístico GENES (CRUZ, 2013).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias para as variáveis: germinação, em %, comprimento da parte aérea e de raiz, em cm, correlacionada com as diferentes dosagens de azida sódica e aplicação em distintos tempo de embebição, estão apresentadas nas tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1. Comparação de médias para a variável germinação, em %, em diferentes doses (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mM) e tempo (0; 5; 9; 22; 35; e 39 h) em aveia preta. Itaqui/RS, 2017.

Dose	Tempo						Média das doses
	0 h	5 h	9 h	22 h	35 h	39 h	
0,0	99,5 Aa	97,0 Aa	91,5 Aa	84,0 Ba	79,5 Cb	72,5 Cb	87,3 a
0,5	52,5 Bb	89,5 Aa	83,5 Aa	79,0 Aa	81,5 Aa	88,5 Aa	79,1 a
1,0	14,0 Cd	90,0 Aa	80,5 Aa	67,0 Bb	68,0 Bb	84,5 Aa	67,3 b
1,5	29,5 Dc	87,0 Aa	68,0 Cb	59,5 Cb	60,0 Cb	75,5 Bb	63,2 b
2,0	19,0 Dd	19,0 Dd	83,5 Aa	51,5 Cc	27,5 Dc	70,5 Bb	55,9 c
Média do tempo	42,9 D	89,4 A	81,4 B	68,2 C	63,3 C	78,3 B	

* Médias seguidas da mesma letra maiúsculas e minúsculas, na horizontal e vertical, respectivamente, não diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade de erro, pelo teste de Scott e Knott.

A semente tratada com o mutagênico (azida de sódio) no primeiro momento (0 hora), diminuiu gradativamente a germinação com o aumento da concentração do produto (Tabela 1). O mutagênico teve efeito tóxico, comprovado pela diminuição da germinação, também percebido por Khan et al., (2009b), onde a dose mais concentrada de azida de sódio causa perturbações na produção genética e atividades fisiológicas que levam à morte das células, estudos realizados com sementes de rúcula em diferentes concentrações de AS, a germinação diminuiu à medida que a concentração de AS aumentou.

A dose de 0,0 mM teve média considerada para os momentos de 0, 5 e 9 h, os demais momentos acarretaram num declínio de germinação, evidenciando que a saturação por água em longo período prejudica na germinação da semente de aveia preta. Na dosagem de 0,5 mM demonstrou ser a mais adequada para criar variabilidade genética, comprovada pelas médias das doses (79,1%). Para a dose de 1,0 mM obteve bons resultados para a germinação em 5, 9 e 39 h previamente embebidas para serem tratadas posteriormente. Na dose de 1,5 mM obteve êxito no efeito do mutagênico apenas no momento de 5 horas. Na magnitude de 2,0 mM obteve maior letalidade dentro dos períodos, em estudos de Hasegawa & Inoue (1983), relatam menor porcentagem de germinação em aveia na dose 2,5mM. Porém ainda para dose de 2,0 mM ressalta-se um resultado significativo para a germinação no período de 9 horas que compreende o início da fase II da germinação onde inicia as atividades enzimáticas para as transcrições de RNA e sínteses de ATP e DNA, resultado que corrobora com Hasegawa &

Inoue, (1980) em experimento de arroz com dose elevada (10 mM de AS) aplicada na fase de síntese do DNA, a AS quando atua neste estágio de primeira divisão celular do processo de germinação é mais eficaz na indução de mutação. Assim, comprovado pela média de germinação que para os tempos de 5 e 9 h obtiveram maior efeito.

Tabela 2. Comparação de médias para a variável comprimento parte aérea, em cm, em diferentes doses (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mM) e tempo (0; 5; 9; 22; 35; e 39 h) em aveia preta. Itaqui/RS, 2017.

Dose	Tempo						Média das doses
	0 h	5 h	9 h	22 h	35 h	39 h	
0,0	9,25 Aa	11,8 Ab	11,15 Ab	12,57 Aa	11,1 Aa	12,87 Aa	11,45 a
0,5	12,32 Ba	10,4 Bb	14,32 Aa	11,27 Ba	10,45 Bb	11,47 Ba	11,7 a
1,0	10,12 Aa	11,07 Ab	11,67 Ab	11,92 Aa	11,79 Aa	11,52 Aa	11,35 a
1,5	9,67 Ca	14,97 Aa	11,95 Bb	10,75 Ca	8,52 Cb	12,47 Ba	11,39 a
2,0	11,32 Aa	12,15 Ab	10,97 Ab	5,7 Bb	7,3 Bb	12 Aa	9,9 a
Média do tempo	10,54 A	12,08 A	12,01 A	10,44 A	9,83 A	12,07 A	

* Médias seguidas da mesma letra maiúsculas e minúsculas, na horizontal e vertical, respectivamente, não diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade de erro, pelo teste de Scott e Knott.

Para a variável comprimento de parte aérea nos tempos de 0 e 39 h não teve efeito mutagênico. Para os tempos de 5 e 9 h, nas doses de 1,5 e 0,5 mM, respectivamente, obtiveram as melhores médias perante o CPA (Tabela 2). Nas 22 h a dose de 2,0 mM diminuiu o CPA, o mesmo evidenciou-se para o tempo de 35 h nas doses 1,5 e 2,0 mM. As doses de 0 e 1,0 mM não afetaram no CPA. Pela média das doses e tempo, a variável CPA não foi afetada pelo mutagênico.

Tabela 3. Comparação de médias para a variável comprimento de raiz, em cm, em diferentes doses (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0 mM) e tempo (0; 5; 9; 22; 35; e 39 h) em aveia preta. Itaqui/RS, 2017.

Dose	Tempo						Média das doses
	0 h	5 h	9 h	22 h	35 h	39 h	
0,0	12,1 Ba	13,6 Ba	14,12 Ba	17,77 Aa	16,17 Aa	15,92 Aa	14,95 a
0,5	5,4 Bb	5,12 Bc	5,85 Bb	3,55 Bc	8,15 Ac	9,65 Ac	6,28 b
1,0	5,6 Bb	6,95 Bb	3,92 Bb	5,85 Bb	10,62 Ab	12,27 Ab	7,53 b
1,5	3,02 Cb	8,35 Ab	5,47 Bb	7,2 Ab	7,7 Ac	8,37 Ac	6,68 b
2,0	5,12 Bb	8,15 Ab	5,75 Bb	3,82 Bc	5,9 Bc	7,7 Ac	6,07 b
Média do tempo	6,25 B	8,43 B	7,02 B	7,64 B	9,71 A	10,78 A	

* Médias seguidas da mesma letra maiúsculas e minúsculas, na horizontal e vertical, respectivamente, não diferem estatisticamente entre si a 5% de probabilidade de erro, pelo teste de Scott e Knott.

A dose de 0,0 mM mostrou que com aumento do período de embebição propiciou o aumento do CR (Tabela 3), isto explicasse pela condição imposta pelo protocolo realizado previamente pré período de incubação, o que pelo contrário, em ambiente saturado, que em consequência não ocorre a protrusão da radícula. Resultado que corrobora com Siddiqui et al., (2007) em estudos com feno grego as sementes que não foram tratadas com AS, o comprimento da raiz aumentou com o acréscimo no tempo de embebição. Com a atuação do mutagênico, independente da dose e tempo, teve efeito na variabilidade ao reduzir o CR, em evidência pelo menos 50% do comprimento quando comparado com a dose controle de 0,0 mM. Segundo Adamu & Aliyu, (2007), a diminuição da emergência de plântulas, altura da plântula, comprimento da raiz e sobrevivência das mudas com aumento da concentração mutagênica de AS foi observada em estudos com mutantes de tomate. A azida de sódio é um forte mutagênico, e o crescimento das partes da planta é fortemente inibido com o aumento da sua concentração e duração do tratamento (KHAN et al., 2009a). Os valores mais elevados de CR usando a azida sódica foram nas doses de 1,5 e 2,0 mM para o tempo de 5 horas, além das doses 0,5 e 1,0 mM para os tempos de 35 e 39 horas, respectivamente.

4 CONCLUSÃO

Para maximizar a germinação, aumentar o comprimento da parte aérea e ter pouca redução no comprimento de raiz, a dose de 1,5 mM de AS quando utilizada para o tratamento de sementes de aveia preta no período de 5 horas obteve êxito no incremento de variabilidade genética.

O efeito da variabilidade para a germinação dos mutantes de aveia preta na dose de 0,5 mM podendo tratar em variados períodos de embebição é eficiente para iniciar testes de melhoramento.

As doses e os tempos apresentam pouca influência no comprimento da parte aérea.

As sementes de aveia preta tratadas com azida de sódio apresentam redução no comprimento da raiz.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMU A. K.; ALIYU, H. Morphological effects of sodium azide on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). **Science World Journal**. v. 2, n. 4, p. 9-12, 2007.

AGROALPHA. Disponível em: <http://agroalpha.agr.br>. Acesso em 10 de março de 2017.

AHLOOWALIA B. S.; MALUSZYNSKI M. Induced mutation. A new paradigm in plant breeding. **Euphytica**, v. 2, p. 167-173, 2001.

ABRASEM - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS. Disponível em: <<http://www.abrasem.com.br>. Acesso em 30 de outubro de 2017.

BARROS, V. L. N. P. Aveia preta – Alternativa de cultivo no outono/inverno. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 10, n. 2, 2013.

BRASIL - Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, p. 147-224, 2009.

CARVALHO F. I. F.; FEDERIZZI L. C. Evolução da cultura da aveia no sul do Brasil. **Revista Trigo e Soja**, n. 102, p. 16-19, 1989.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>. Acesso em 19 de outubro de 2017.

CRUZ, C. D. GENES – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v. 35, p. 271-276, 2013.

FONTANELI R. S.; DOS SANTOS H. P.; FONTANELI R. S. Forrageiras para Integração Lavoura-Pecuária-Floresta na Região Sul-Brasileira. In: FONTANELI R. S.; DOS SANTOS H. P.; FONTANELI R. S.; DE OLIVEIRA J. T.; LEHMEN R. I.; DREON G. **Gramíneas Forrageiras Anuais de Inverno**. 2. ed. P. 127-135, EMBRAPA, 2012.

GRUSZKA D.; SZAREJKO I.; MALUSZYNSKI M. Sodium Azide as a Mutagen. SHU Q. Y.; FORSTER B. P.; NAGAGAWA H. In: Plant Mutation Breeding and Biotechnology. **Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture**. Ed. CABI International, Wallingford, UK, p. 159-166, 2011.

HASEGAWA H.; INOUE M. Enhancement of sodium azide mutagenicity by ethidium bromide in rice (*Oryza sativa* L.), **Environmental and Experimental Botany**. v. 23, p. 53-57, 1983.

HASEGAWA H.; INOUE M. Effects of sodium azide on seedling injury and chlorophyll mutation in rice. **Japan Journal of Breeding**. v. 30, p. 301-308, 1980.

KHAN S.; AL-QURAINY F.; ANWAR F. Sodium Azide: a chemical mutagen for enhancement of agronomic traits of crop plants. **Environment & We Journal of Science & Technology**. v. 4, p. 1-21, 2009a.

KHAN S.; AL-QURAINY F. Mutagenic effect of sodium azide on seed germination of *Eruca sativa* (L.). **Australian Journal of Basic and Applied Sciences** v. 3, p. 3081-3087, 2009b.

KLEINHOFS A.; OWAIS W. M.; NILAN R. A. Azide. **Mutation research**, v. 55, p. 165-195, 1978.

MACHADO, A. T. Construção histórica do melhoramento genético de plantas: do convencional ao participativo. **Revista Brasileira de Agroecologia**. v. 9, p. 35-50, 2014.

MENSAH J. K.; OBADONI B. Effects of sodium azide on yield parameters of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **African Journal of Biotechnology**. v. 6, p. 668-671, 2007.

MOLITERNO, E. **Variabilidade genética e a eficiência de seleção no caráter dormência de sementes em aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.)**. Tese doutorado pós graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Fevereiro de 2008.

NILAN R. A.; SIDERIS E. G.; KLEINHOFS A.; SANDERAND C.; KONZAK C. F. Azide - a potent mutagen. **Mutation Research**. v. 17, p. 142-144, 1973.

PREDIERI, S. Mutation induction and tissue culture in improving fruits. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. v. 64, p. 185-210, 2001.

SIDDIQUI S.; MEGHVANSI M. K.; HASAN Z. Cytogenic changes induced by sodium azide (NaN₃) on *Trigonella foenum-graecum* L. **South Africa of Botany**. v. 73, p. 632-635, 2007.

SILVEIRA G. da; MOLITERNO E.; RIBEIRO G.; CARVALHO F. I. F.; OLIVEIRA A. C.; NORBERG R.; BARETTA D.; MEZZALIRA I. Variabilidade genética para características agrônomicas superiores em cruzamentos biparentais de aveia preta. **Bragantia**, v. 69, n. 4, p823-832, 2010.

UKWUBILE C. A.; NATHANIEL M. S. Effects of sodium azide (nan₃) on seed germination, plantlets growth and in vitro anmalarial activities of *Phyllanthus odontadenius* Mull. **Asian Journal of Research in Chemistry and Pharmaceutical Sciences**. v. 2, p. 15-26, 2014.

VEIGA A. A.; CARLOS E. O.; JOÃO C.; NETO A. T.; ANDO A. Indução de mutação no melhoramento do trigo. **Revista Científica do Instituto Agrônômico do Estado de São Paulo**. v. 37, n. 12, p. 103-108, 1978.