

## AGENTES MUTAGÊNICOS E A INTENSIDADE DE VARIABILIDADE GENÉTICA NO CARÁTER ESTATURA DE PLANTAS DE AVEIA (*AVENA SATIVA L.*)<sup>1</sup>

### MUTAGENIC AGENTS AND GENETIC VARIABILITY INTENSITY ON PLANT STATURE OF OAT (*AVENA SATIVA L.*)

Alfredo do Nascimento Júnior<sup>2</sup> Fernando Irajá Félix de Carvalho<sup>3</sup>  
José Fernandes Barbosa Neto<sup>3</sup> Luiz Carlos Federizzi<sup>3</sup>

#### RESUMO

Há evidências de que a variabilidade genética é um dos pontos básicos para o progresso da aveia no Sul do Brasil. O caráter adaptativo, como estatura da planta, poderá contribuir para o desenvolvimento da cultura, desde que existam diferenças genéticas para a seleção. Desta forma, a indução à mutação poderá ser um mecanismo eficiente no melhoramento da espécie. A azida sódica e o cobalto-60 foram testados na indução de mutações em duas variedades de aveia, UFRGS-7 e UFRGS-8, em diferentes doses. A média e a variância das gerações provenientes de sementes tratadas foram comparadas aos genótipos não tratados, evidenciando alteração genética no caráter estudado para todos os tratamentos. A azida sódica foi mais favorável para a indução de modificações herdáveis sem causar efeitos deletérios. Os resultados evidenciam que o uso de agentes mutagênicos poderá ser uma eficiente alternativa de incremento de variabilidade em aveia.

**Palavras-chave:** mutação induzida, *Avena sativa* L., estatura da planta, melhoramento genético vegetal.

#### SUMMARY

Genetic variability is basic for oat progress in southern Brazil. Adaptive trait, as plant stature, could be of major importance for oat crop development. In this way, mutation breeding should be an efficient tool for plant breeders develop new genetic combinations for selection of superior genotypes. Two mutagenic agents, sodium azide and  $\gamma$ -ray, were applied on two oat varieties, UFRGS-7 and UFRGS-8, using different product doses. In order to induce heritable alterations (micromutations), the sodium azide showed the best benefits, without showing deleterious effects on plants. The data obtained evidenced that mutation breeding is an interesting approach in order to enlarge oat variability range in southern Brazil.

**Key words:** mutation breeding; *Avena sativa* L., stature trait, plant breeding.

#### INTRODUÇÃO

A criação de novas cultivares com potencial genético de elevada produtividade, adequado tipo agronômico e resistência às principais moléstias

<sup>1</sup>Parte da dissertação apresentada como requerimento para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Fitotecnia) do primeiro autor, na Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

<sup>2</sup>Engenheiro Agrônomo, MSc., Pesquisador EMPAER-MT, Caixa Postal 155. 78300-000 - Tangará da Serra - MT.

<sup>3</sup>Engenheiro Agrônomo, Professor do Departamento de Plantas de Lavoura, Faculdade de Agronomia, UFRGS. Caixa Postal 776. 90001-970 - Porto Alegre, RS, Brasil.

poderá ser um ponto fundamental para incrementar o cultivo da aveia; entretanto, para isto é necessário a existência de variabilidade genética, com o objetivo de permitir ao melhorista a seleção de novos tipos agro-nômicos (ALLARD, 1960). Assim sendo, a técnica de indução a mutações parece ser uma alternativa interessante para o melhoramento de aveia, uma vez que trabalhos com agentes mutagênicos evidenciaram que radiações ionizantes ou agentes químicos incrementavam a variabilidade genética em trigo (BOROJEVIC, 1966; FILIPPETTI & DE PACE, 1986).

SCOSSIROLI (1977) apontou que um método de avaliação viável para a detecção de variação através de tratamentos mutagênicos, seria o uso das medidas de tendência central e de dispersão, média e variância, respectivamente. Segundo GREGORY (1967), alterações de média em progênies tratadas com mutagênicos poderia indicar a ocorrência de modificações de um pequeno número de genes, porém de grande expressão sobre o caráter, caracterizando uma macromutação; por outro lado, o incremento da variância em uma população tratada poderia significar alterações em um grande número de genes, onde cada um contribuiria com pequeno efeito na determinação do caráter, sendo denominadas de micromutações. De maneira geral, parece ser mais vantajoso trabalhar com mutações de pequena amplitude na manifestação do caráter, onde efeitos indesejáveis (deletérios) são menos pronunciados (GAUL et al., 1969).

Os agentes mutagênicos físicos, como radiações ionizantes, apresentam uma boa capacidade de penetração no tecido celular, tendo como alvo principal a molécula de DNA, determinando aberrações cromossômicas, cromatídicas e mutações gênicas (AHNSTRÖM, 1977). De outra forma, os agentes mutagênicos químicos possuem diversos mecanismos de atuação, dependendo de cada princípio ativo envolvido, mas de maneira geral, estas substâncias estão associadas, principalmente, a mutações gênicas (HESLOT, 1977). A interação, entre genótipo e tratamento mutagênico, tem sido apontada como bastante significativa, onde a frequência de modificações é altamente dependente das variedades testadas (FILIPPETTI & DE PACE, 1986; KLEINHOFS et al., 1978).

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido a campo durante os anos de 1988 e 1989 na Estação Experimental Agro-nômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

(EEA/UFRGS) localizada no município de Eldorado do Sul (RS).

Sementes genéticas de duas cultivares de aveia, UFRGS-7 e UFRGS-8, contendo 12% de umidade, foram tratadas com os seguintes agentes mutagênicos: a) cobalto-60 (raios  $\gamma$ ), onde sementes foram irradiadas no Departamento de Engenharia Nuclear da UFRGS, empregando uma fonte de cobalto-60 com uma taxa de 0,25Gy/min (25R/min) cujas doses totais absorvidas foram de 100, 200 e 400Gy (10, 20 e 40 KR) por tratamento de 1.000 sementes em cada variedade; b) os tratamentos com azida sódica ( $\text{NaN}_3$ ) realizados no laboratório do Departamento de Plantas de Lavoura da Faculdade de Agronomia da UFRGS, consistiram na pré-hidratação de 1.000 sementes em água destilada durante 8h, com a utilização posterior de solução azida sódica, de pH 3,0 durante, 2, 4 e 8h, nas concentrações de 0,001; 0,002 e 0,004M. Para os tratamentos, as sementes foram imersas na solução mutagênica em frascos Erlenmeyer, contendo aproximadamente 0,5ml de solução por unidade de semente, em seguida a dispersão foi agitada por 10min com o objetivo de uniformizar a mistura. Após o término dos tratamentos as sementes foram lavadas em água corrente, durante uma hora, para retirar o excesso do produto aplicado.

No experimento a campo, em todas as gerações cultivadas foram incluídas as variedades originais como tratamento padrão.

A geração  $M_1$  (primeira geração após o tratamento de sementes) foi semeada a campo no inverno de 1988, onde cada tratamento correspondeu a uma parcela com 45 linhas, sendo cada linha de 3,0m de comprimento e o espaçamento entre linhas de 0,20m, com 7 plantas por metro linear. Na maturação foram colhidas uma panícula por planta, sendo ensacadas separadamente. Um número de 10 panículas  $M_1$  de cada tratamento foram selecionadas ao acaso para compor a geração  $M_2$ , constituindo 10 famílias distintas; apenas as panículas que apresentaram mais de 85 sementes foram utilizadas. Destas, dez sementes de cada panícula foram cultivadas por fileira em casa de vegetação no verão de 1988/89 com o objetivo de avançar para  $M_3$  (Figura 1).

No inverno de 1989, foram semeadas no campo as 75 sementes restantes das panículas  $M_1$ . O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados com três repetições. O comprimento das linhas foi de 5,0m, com um espaçamento entre linhas de 0,20m, onde 25 sementes foram semeadas por linha. A geração  $M_3$  foi semeada no inverno de 1989, com sementes provenientes das panículas  $M_2$  colhidas em casa de vegetação no verão anterior, onde os tratamentos foram cultivados isoladamente sem repetições,

sendo semeadas entre eles uma fileira de cada um dos padrões. Os grãos de cada panícula foram semeados por linha, onde o comprimento da linha foi de 3,0m com um espaçamento de 0,20m entre linhas. As observações foram realizadas por planta em todos os tratamentos e gerações. Duas semanas após a antese, foi medida a estatura da planta (distância da superfície do solo junto à planta até o ápice das panículas, excluindo as aristas).

Em todas as gerações foram obtidas médias e variâncias em cada população tratada. Nas gerações  $M_2$  e  $M_3$  foi possível ainda avaliar a média e a variância dentro de cada uma das famílias dentro dos tratamentos. Todas as comparações estatísticas foram feitas com relação aos padrões, sendo utilizado o teste t para médias e o teste de F para variâncias, descritos por STEEL & TORRIE (1980).

## RESULTADOS

Os resultados demonstram que o mutagênio cobalto-60, em doses maiores provocou modificações de médias e de variâncias para ambos os genótipos, sendo que, em geral, foi observado reduções de médias para estatura e incrementos significativos nas variâncias. Da mesma forma, no emprego da azida sódica, todos os tratamentos foram efetivos na indução de alterações nas médias da variedade UFRGS-7, porém na variedade UFRGS-8 somente algumas doses provocaram modificações na média da estatura das populações; com relação à variância, a variedade UFRGS-7 revelou um incremento em presença de tratamentos com tempo de exposição reduzidos, enquanto que a UFRGS-8 necessitou de um maior tempo de exposição à azida sódica para modificar as variâncias (Tabela 1).

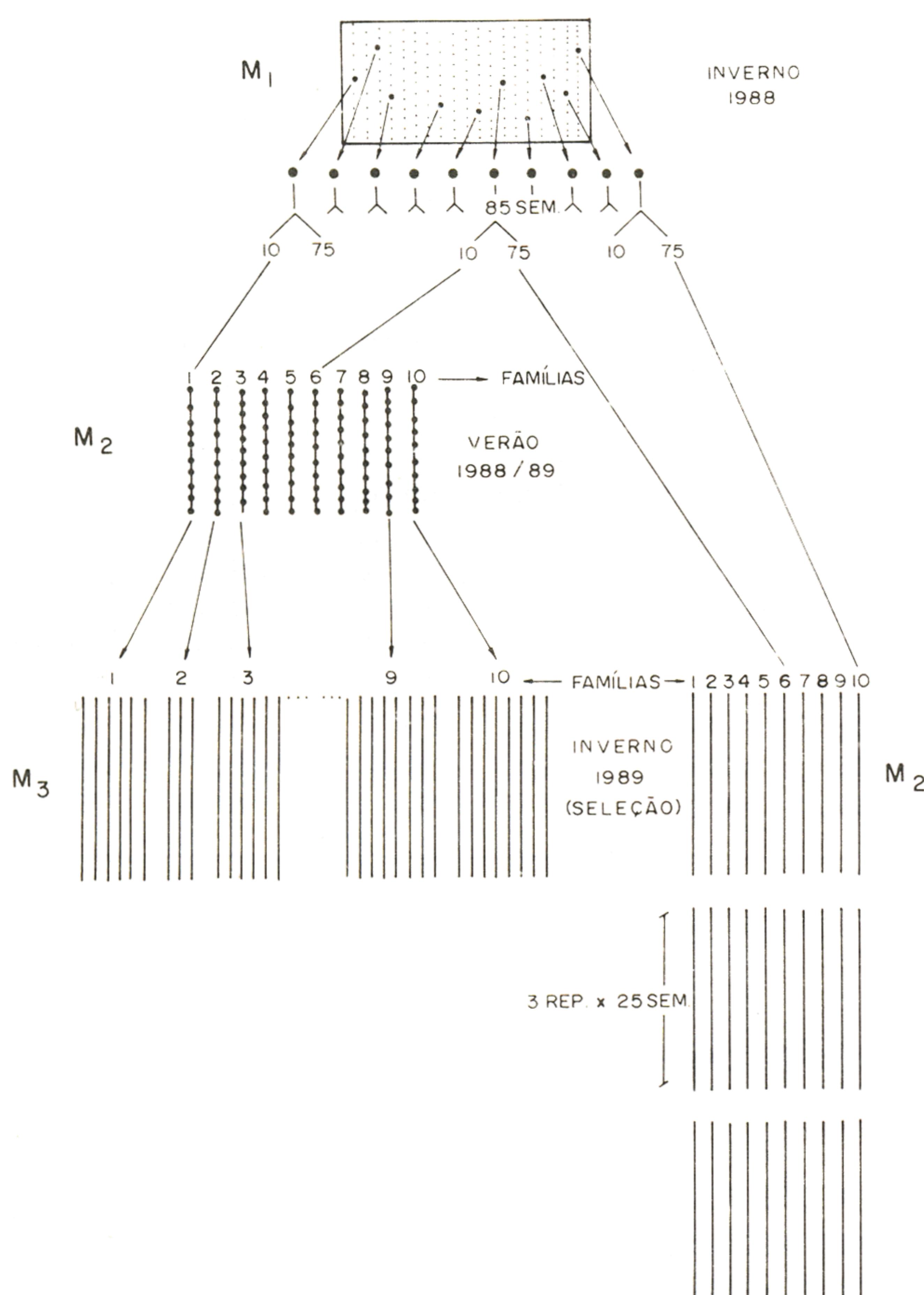


Figura 1. Representação esquemática do procedimento utilizado na condução do experimento. Eldorado do Sul, 1988/89.

Tabela 1. Média (cm) e variância do caráter estatura de planta da geração  $M_1$ , das variedades de aveia UFRGS-7 e UFRGS-8 tratadas com mutagênicos cobalto-60 ( $\text{Co}^{60}$ ) e azida sódica ( $\text{NaN}_3$ ) em diferentes dosagens, Eldorado do Sul (RS), 1989.

Muta-gênicos	Dose	Tempo	UFRGS-7		UFRGS-8	
			Média	Variância	Média	Variância
Cobalto	100Gy	-	92,17	41,51	105,02	69,96*
	200Gy	-	96,66*	47,71*	99,26*	89,48*
	400Gy	-	88,75*	54,10*	101,38*	147,68*
Azida	0,001M	2	97,63*	46,79*	106,39*	70,60*
		4	90,53*	36,56	98,97*	57,82
		8	87,17*	33,69	103,96	73,90*
	0,002M	2	91,64	46,03*	105,02	54,36
		4	91,56*	35,55	103,65	59,13
		8	87,84*	39,88	101,31*	62,31*
	0,004M	2	86,60*	49,84*	102,04*	55,68
		4	91,16*	39,62	105,35	112,81*
		8	82,76*	106,68*	98,02*	125,95*
Controle			92,86	34,81	104,01	46,80

\* Significante a 1% segundo teste de t para médias e teste de F para variâncias.

O efeito dos mutagênicos nas diferentes populações de plantas selecionadas em  $M_1$  e suas respectivas progênies em  $M_2$  e  $M_3$  estão apresentados na Tabela 2. No cobalto-60, a análise dos resultados

dos conjuntos de plantas selecionadas em  $M_1$ , evidenciaram que, apenas a dose mais elevada (400Gy) determinou alterações de média em ambos os genótipos; além disso, nenhuma das doses induziu mudanças na variância das plantas (Tabela 2). No que se refere às populações  $M_2$  pode ser observado que a maioria das doses empregadas induziu modificações na média das populações; contudo, o incremento da variância ocorreu na dose mais elevada para a variedade UFRGS-7 (Tabela 2). Os resultados nas populações  $M_3$  demonstram que, em ambos os genótipos, as doses 200 e 400Gy foram efetivas na alteração das médias; por outro lado, não foi verificada alteração na variância dos genótipos, exceto nas doses de 200 e 400Gy na variedade UFRGS-7 (Tabela 2).

Da mesma maneira, pode ser constatado que os tratamentos com azida sódica em doses reduzidas (0,001M e 0,002M com tempo de tratamento de 2h) não causaram variações na média de estatura em plantas  $M_1$  da variedade UFRGS-7 em relação ao controle, sendo que na variedade UFRGS-8 nenhum dos tratamentos foi efetivo na alteração dos valores médios das plantas selecionadas (Tabela 2). De modo geral, não foram verificadas mudanças de variância em  $M_1$  para as variedades UFRGS-7 e UFRGS-8; por outro lado, nas populações  $M_2$  foram observadas alterações na média dos genótipos empregados, principalmente na variedade UFRGS-7. Na análise dos resultados para a variância pode ser verificado que poucas doses foram efetivas no incremento do parâmetro, sendo necessário maior tempo na exposição à azida sódica para intensificar a variabilidade nas diferentes populações (Tabela 2). Considerando os resultados obtidos nas populações  $M_3$  a maior parte dos tratamentos mostrou médias distintas do controle em ambos os genótipos; entretanto, na variedade UFRGS-7 três tratamentos não diferenciaram do padrão. Além disso, pode ser observado que todos os tratamentos na variedade UFRGS-7 apresentaram altos valores para a variância, o mesmo não ocorrendo para a variedade

Tabela 2. Média (cm) e variância do caráter estatura da planta das gerações  $M_1$ ,  $M_2$  e  $M_3$  das variedades de aveia UFRGS-7 e UFRGS-8 tratadas com dois agentes mutagênicos, Eldorado do Sul (RS), 1989.

Varie- dade	Dose	Tempo (s)	$M_1$		$M_2$		$M_3$	
			Média	Variân.	Média	Variân.	Média	Variân.
Cobalto-60								
UFRGS-7	100Gy	-	94,9	28,49	137,20*	55,02	120,30	66,28
	200Gy	-	100,4	14,02	132,60*	83,87	125,60*	88,51*
	400Gy	-	88,2*	12,36	132,80*	167,30*	124,30*	140,30*
	Controle	-	98,2	16,92	135,45	71,17	131,55	48,47
UFRGS-8	100Gy	-	108,1	35,89	155,14	99,77	150,10	76,80
	200Gy	-	102,7	25,78	149,70*	121,40	143,00*	58,10
	400Gy	-	99,0*	39,20	149,30*	141,20	146,20*	63,80
	Controle	-	107,8	16,16	155,74	117,12	150,64	75,52
Azida sódica								
UFRGS-7	0,001M	2	96,9	20,09	132,20*	83,13	121,78*	86,37*
		4	87,4*	50,25	130,50*	86,30	126,47*	142,99*
		8	89,5*	4,25	129,70*	100,40*	125,65*	132,90*
	0,002M	2	95,7	14,01	132,60*	127,60*	129,40	140,90*
		4	91,7*	18,17	130,20*	72,30	130,60	84,70*
		8	91,5*	12,25	133,80	111,10*	127,80*	128,70*
	0,004M	2	86,8*	6,55	132,20*	84,50	126,40*	94,62*
		4	93,0*	7,56	133,70	57,70	126,60*	78,85*
		8	89,1*	24,49	139,50*	81,50	131,44	102,24*
	Controle	-	98,2	16,96	135,45	71,17	131,55	48,47
UFRGS-8	0,001M	2	107,5	20,45	152,80*	131,20	142,40*	104,70
		4	94,6	457,48*	135,50	59,70	147,20*	53,40
		8	102,0	94,33*	149,80*	127,30	137,60*	95,20
	0,002M	2	102,6	53,11	152,90*	127,70	145,00*	116,02*
		4	109,9	139,69*	154,10	86,50	146,13*	92,50
		8	105,4	37,04	157,90	65,90	147,50*	128,90*
	0,004M	2	110,5	30,69	156,70	78,70	145,30*	96,10
		4	108,1	35,84	154,50	79,40	146,10*	57,90
		8	100,0	52,89	149,60*	183,40*	136,82*	201,86*
	Controle	-	107,8	16,16	155,74	117,12	150,64	75,52

\* Significante a 1% segundo teste de t para médias e teste de F para variâncias.

UFRGS-8, onde apenas em três tratamentos ocorreram incrementos na variabilidade (Tabela 2).

Algumas famílias que diferiram significativamente dos controles evidenciaram na geração  $M_2$  uma grande freqüência de alterações na média do caráter, sendo a variância menos afetada; por outro lado, na geração  $M_3$  um grande número de progénies demonstrou modificações de variância, com as médias permanecendo distintas do controle (Tabela 3). A geração  $M_3$  foi a de menor estatura; entretanto, algumas progénies demonstraram um pequeno acréscimo em relação ao

controle. Quanto aos produtos utilizados, a azida sódica demonstrou uma freqüência mais elevada de modificações nas variâncias, principalmente na geração M<sub>3</sub> (Tabela 3).

## DISCUSSÃO

Os mutagênicos utilizados (cobalto-60 e azida sódica) nas duas variedades de aveia (UFRGS-7 e

Tabela 3. Famílias de duas variedades de aveia tratada com dois agentes mutagênicos significativamente diferentes dos controles na média e/ou variância para o caráter estatura de panta (cm). Eldorado do Sul (RS), 1989.

Varie- dade	Dose	Tempo (s)	Nº fam.	M <sub>1</sub>		M <sub>2</sub>			M <sub>3</sub>		
				Média	n	Média	Var.	n	Média	Var.	
Cobalto-60											
UFRGS-7	100Gy	-	3	99	61	139,61*	44,50	12	122,75	137,30*	
	200Gy	-	2	100	60	132,02	83,70	16	121,94*	120,18*	
			4	96	62	129,42*	54,40	27	124,04*	60,48	
	400Gy	-	8	90	59	133,25	73,84	13	125,15*	15,98	
			9	87	53	121,26*	80,08	11	117,73*	49,47	
	Controle	-	-	-	165	135,45	71,17	100	131,55	48,47	
UFRGS-8	100Gy	-	2	115	67	157,31	109,22	37	153,19	243,61*	
			5	108	16	150,93	124,99	30	144,80*	57,29	
	200Gy	-	2	105	36	142,28*	71,69	17	139,35*	32,93	
			6	109	45	157,64	34,82	29	143,03*	49,96	
	400Gy	-	5	98	55	146,58*	188,80	25	143,40*	67,52	
	Controle	-	-	-	167	155,74	117,12	100	150,64	75,52	
Azida Sódica											
UFRGS-7	0,001M	2	2	97	60	130,50*	59,58	11	116,70*	21,47	
			4	104	57	137,00	26,28	15	125,50*	55,85	
			4	94	61	124,10	31,88	13	130,20	305,20*	
			8	87	51	126,10*	163,55*	27	123,50*	159,14*	
	0,002M	2	1	90	44	130,20*	52,82	21	130,40	137,57*	
			4	96	60	129,30*	25,77	21	130,10	38,31	
			6	82	56	131,60*	28,02	10	125,10*	25,09	
			8	93	49	134,90	29,82	20	128,70	115,65*	
			7	91	55	134,70	49,49	15	133,30	135,28	
			9	91	55	133,40	33,99	17	126,90	283,04*	
	0,004M	2	2	85	52	134,00	96,33	18	125,30*	8,42	
			4	86	60	132,50	64,28	19	120,10*	59,82	
			4	92	54	128,00*	37,43	22	127,30*	23,83	
			2	98	58	130,60*	63,09	19	122,50*	23,40	
			8	88	55	135,60	60,95	24	126,80*	41,75	
			4	101	67	140,40*	79,69	44	137,60*	69,72	
			10	90	61	130,70*	61,45	20	118,60*	27,93	
	Controle	-	-	-	165	135,45	71,17	100	131,55	48,47	
UFRGS-8	0,001M	2	5	100	56	147,20*	55,21	33	130,00*	264,22*	
			7	116	59	156,40	213,80*	45	146,40	135,71*	
			4	103	55	148,50*	69,55	22	140,80*	30,33	
			8	90	37	148,90*	177,39	15	141,90*	109,39	
	0,002M	2	1	108	47	144,60*	81,80	29	134,60*	130,24	
			8	91	49	156,40	101,15	29	135,50*	600,04*	
	0,004M	8	3	99	53	145,30*	61,61	15	132,10*	245,13*	
			6	102	46	151,20*	101,39	29	130,10*	271,58*	
	Controle	-	-	-	167	155,74	117,12	100	150,64	75,52	

\* Significante a 1% segundo teste de t para médias e teste F para variâncias.

UFRGS-8) possibilitaram a identificação de modificações na estatura de planta, tanto em relação à média, quanto à variância das populações tratadas; mas é de fundamental importância a avaliação nas gerações seguintes ao tratamento mutagênico ( $M_2$  e  $M_3$ ), objetivando a exclusão dos efeitos somáticos (deletérios), confusos na grande maioria das vezes nas populações  $M_1$  (BOROJEVIC & BOROJEVIC, 1968), concordando com os resultados evidenciados por BOROJEVIC & BOROJEVIC (1972).

Na irradiação de sementes com o cobalto-60 foi constatado que na medida que aumentava a dose absorvida havia um incremento na variabilidade fenotípica, conforme indicou SCOSSIROLI (1977); por outro lado, para a azida sódica, o incremento das doses não demonstrou ser efetivo, uma vez que os resultados obtidos foram similares, permitindo apontar que a amplitude de dose empregada foi limitada. A padronização de pH 3,0 e o pré-tratamento de sementes em água poderiam ser os fatores que teriam influenciado no tipo de resposta obtida com o produto, potencializando seus efeitos, mesmo em doses mais reduzidas.

Associando os resultados obtidos com a conceituação de tipos de mutações (GREGORY, 1967), é possível indicar que ambos os mutagênicos determinaram a ocorrência de macro e micromutações nos genótipos utilizados, porém, de uma forma mais generalizada pode ser verificado que o mutagênico cobalto-60 provocou maior intensidade de macromutações, uma vez que o parâmetro mais efetado foi a média das populações. Por outro lado, a azida sódica induziu uma alta freqüência de micromutações apesar da freqüência de macromutações para a estatura ser semelhante à induzida pelo cobalto-60.

O caráter estatura de planta é adaptativo, isto é, resulta numa mudança de freqüência nas gerações subsequentes (GREGORY, 1967), onde é esperado que mutações ao acaso incrementem a variância e modifiquem a média no sentido oposto à pressão de seleção exercida previamente. A resposta observada para estatura de planta ocorreu na mesma direção do que a seleção realizada pelos melhoristas, indicando que mecanismos de herança e ação gênica desempenham papel fundamental na determinação de respostas à utilização de produtos mutagênicos, fato que pode ser sustentado por trabalho apresentado por GUSTAFSSON et al. (1960).

É de fundamental importância destacar a possibilidade do emprego de mutagênicos no melhoramento, principalmente produtos que determinem alterações na variância (micromutações), uma vez que GREGORY (1967) indicou que populações com vários

mutantes de pequeno efeito individual estabeleciam uma base perfeita para a seleção. De maneira geral, as modificações obtidas para estatura de planta revelaram um grande potencial de progresso genético, uma vez que diversas famílias apresentaram decréscimos acentuados neste caráter, onde a variedade UFRGS-8 revelou reduções mais acentuadas do que a variedade UFRGS-7, provavelmente devido à sua estatura ser significativamente maior.

## CONCLUSÕES

Os agentes mutagênicos aumentam a freqüência de mutações em caráter de importância agronômica, como estatura de planta, sendo possível identificar indivíduos mutantes através do emprego dos parâmetros de média e variância. Entre os mutagênicos testados, a azida sódica parece ser o de maior potencial, principalmente pela intensificação de micro-mutações, reduzido efeito deletério e por seu fácil manuseio. Os resultados possibilitam recomendar a utilização de produtos mutagênicos no melhoramento de aveia no Sul do Brasil.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Professor Akihiko Ando e ao Professor Marco T. Vilhena pela colaboração em ceder os produtos mutagênicos e ao CNPq pelo auxílio financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLARD, R.W. *Principles of plant breeding*. 3. ed. New York: J. Wiley, 1960. 485 p.
- AHNSTRÖM, G. *Manual on mutation breeding*. 2. ed. Vienna: IAEA, 1977. Radiology: p. 21-28. (Technical Reports Series nº 119).
- BOROJEVIC, K. Studies on radiation-induced mutations in quantitative characters of wheat (*Triticum vulgare*). In: MUTATIONS IN PLANT BREEDING, 1966. Vienna. Proceedings... Vienna, IAEA. p.15-38.
- BOROJEVIC, K., BOROJEVIC, S. Response of different genotypes of *Triticum aestivum* spp. *vulgare* to mutagenic treatments. In: MUTATIONS IN PLANT BREEDING, 1968. Vienna. Proceedings... Vienna, IAEA. p. 15-46.
- BOROJEVIC, K., BOROJEVIC, S. Mutation breeding in wheat. In: INDUCED MUTATIONS AND PLANT IMPROVEMENT, 1972. Buenos Aires. Proceedings... Vienna, IAEA. p. 237-251.

- FILIPPETTI, A., DE PACE, C. Improvement of seed yield in *vicia faba* L. by using experimental mutagenesis. II. Comparison of gama-radiation and ethyl-methane-sulphonate (EMS) in production of morphological mutants. *Euphytica*, Wageningen, v. 35, p. 49-59, 1986.
- GAUL, H.P.K., ULONSKA, E., ZUM WINKEL, C., et al. Micro-mutations influencing yield in barley-studies over nine generations. In: INDUCED MUTATIONS IN PLANTS, 1969. Pullman. Proceedings... Vienna, IAEA. p. 485-499.
- GREGORY, W.C. Mutation breeding. In: FREY, K.J. **Plant breeding**. 2. ed. Ames: IOWA State University, 1967. cap. 5. p. 189-217.
- GUSTAFSSON, A., HAGBERG, A., LUNDQVIST, V. The induction of early mutants in "Bonus"barley. *Hereditas*, Lund, v. 46, p. 675-699, 1960.
- HESLOT, H. **Manual on mutation breeding**, 2. ed. Vienna: IAEA, 1977. Review of main mutagenic compounds: p. 51-59. (Technical Reports Series, nº 119).
- KLEINHOFS, A., OWAIS, W.M., NILAN, R.A. Azide. **Mutation research**, Amsterdam, v. 55, p. 165-195, 1978.
- SCOSSIROLI, R.E. **Manual on mutation breeding**. 2. ed. Vienna: IAEA, 1977. Mutations in characters with continuous variation: p. 118-123. (Technical Reports Series nº 119).
- STEEL, R.G.D., TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics**. 2.ed. New York: McGraw-Hill, 1980. 633 p.