

RESPOSTA FISIOLÓGICA DE MAMONA CV BRS ENERGIA SUBMETIDA À RADIAÇÃO GAMA COBALTO 60

VIANA, Vívian Ebeling¹; LOPES, Amanda Moreira¹; DEUNER, Sidnei³; SILVA, Sergio Delmar dos Anjos; BOBROWSKI, Vera Lucia.

¹ Universidade Federal de Pelotas; ²EMBRAPA Cerrados, Planaltina- DF; ³Centro de Pesquisas Agropecuárias de Clima Temperado – EMBRAPA; ⁴Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Zoologia e Genética. vih_v@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A mamona (*Ricinus communis* L.) é uma dicotiledônea pertencente à família Euphorbiaceae, que inclui um grande número de espécies nativas da região tropical (AMORIM NETO et al., 1997). A BRS Energia é uma cultivar precoce com ciclo médio de 120 dias que tem mostrado adaptação a diferentes ecossistemas em que ocorre precipitação pluvial de pelo menos 500 mm/ano (ROCHA et al. 2008). Atualmente o cultivo de mamona tornou-se uma opção promissora economicamente para a agricultura, mas ainda torna-se necessário investir em pesquisa para melhorar o conhecimento da fisiologia desta espécie.

Na busca por características agronomicamente interessantes com potencial genético e produtivo, a indução de mutação tornou-se uma ferramenta muito utilizada com a intenção de gerar variabilidade genética. A radiação gama é considerada um dos principais indutores de mutação e aberrações cromossômicas estruturais (PIMENTEL, 1990). Através do uso de radiações ionizantes foram obtidos mutantes com características de maior produtividade, precocidade, menor porte, maior resistência a doenças e pragas utilizados na obtenção de novas variedades (HAQ, 1971).

Segundo Okuno (1988), a radiação gama pode lesar uma molécula pelo mecanismo indireto onde moléculas, como a água, são quebradas pela radiação liberando espécies reativas de oxigênio. A produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos levou ao desenvolvimento de muitos mecanismos de defesa antioxidante para limitar os níveis intracelulares e impedir a indução de danos (SIES, 1993). O estresse oxidativo tem seus danos minimizados pelo sistema antioxidante enzimático representado por diversas enzimas, entre elas a catalase e a superóxido dismutase (BONNEFOY et al. 2002)

A superóxido dismutase (SOD) são metaloenzimas abundantes em células aeróbicas e é uma das mais importantes enzimas (SALVADOR et al.2004). A SOD transforma os radicais superóxido em peróxido de hidrogênio. A catalase (CAT) é uma ferrihemoenzima cuja função principal é dismutar o peróxido de hidrogênio formando água e oxigênio molecular (FRIDOVICH, 1988).

O presente trabalho objetivou avaliar o efeito da radiação gama sobre a germinação de sementes e sobre as enzimas antioxidantes SOD e CAT no tecido radicular de plântulas de mamona das cultivar BRS Energia.

2. METODOLOGIA

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Genética do Departamento de Zoologia e Genética, IB/UFPel em Pelotas-RS. Foram utilizadas 300 sementes de mamona cultivar BRS energia, cedidas pela CPECT-Embrapa, Pelotas, RS. Primeiramente foi retirado a carúncula das sementes, logo após foram pré-embebidas durante 24 horas e submetidas à radiação gama cobalto-60 nas doses de

0, 50, 100, 150 e 200 Gy, utilizando fonte de Cobalto-60 “Eldorado 78” (Atomic Energy of Canadá, Ltda.) do Centro de Oncologia, do Departamento de Radiologia, da Faculdade de Medicina, UFPel.

O experimento ocorreu em casa de vegetação da Embrapa Clima Temperado, onde as sementes foram semeadas em bandejas de poliestireno, com 72 células contendo areia, utilizando-se 12 células para cada tratamento e a semeadura foi feita manualmente usando em cada célula uma semente. O teste de primeira contagem foi realizado no 7º dia após a semeadura (DAS), já o teste de germinação foi realizado ao 14º DAS.

No 21º DAS, as plântulas foram coletadas e levadas para o laboratório onde foram separadas a parte aérea e a raiz, a última foi reservada para a análise das enzimas. Foram macerados 500 mg tecido radicular em 2 ml de tampão de extração composto por Fosfato de potássio 100mM, pH 7,8, EDTA 0,1mM e ácido ascórbico 1mM, acrescido de 20% de PVP. Logo após, foram centrifugados a 13000 RPM, durante 20 minutos a 4°C. O sobrenadante foi coletado para a análise da atividade das enzimas SOD e CAT.

A atividade da SOD foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) em um meio de incubação composto por fosfato de potássio 50mM, pH 7,8, metionina 14mM, EDTA 0,1µM e riboflavina 2 µM. As leituras foram realizadas a 560nm e uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições do ensaio. A CAT foi avaliada pelo decréscimo na absorvância a 240 nm, durante 3 minutos, em um tampão de incubação contendo fosfato de potássio 200 mM, pH 7,0, e H₂O₂ 12,5mM, incubado a 28°C em que foi monitorado o consumo do peróxido de hidrogênio.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco repetições de 12 sementes ou 12 plântulas dependendo do experimento. A análise da variância foi realizada e as médias comparadas estaticamente pelo teste de Tukey.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes realizados com as sementes irradiadas com diferentes doses de radiação gama Co₆₀ apresentam os seguintes resultados: o teste de germinação não demonstrou diferença estatística em relação ao controle nas doses 50, 100 e 150Gy, no entanto a dose de 200Gy diferiu significativamente do tratamento controle (Tab. 1). No teste de primeira contagem não houve diferença estatística entre as doses de 50, 100 e 150Gy em relação ao controle. Mas como podemos observar as doses de 50Gy e 200Gy diferem entre si (Tab. 1).

Tabela 1. Valores obtidos nos teste de germinação e de primeira contagem de sementes de mamona cultivar BRS Energia submetida a diferentes doses de radiação. Pelotas, RS, 2011.

Doses Gy	Primeira contagem (%)	Teste de germinação (%)
0	11,7 ab	65 a
50	28,3 a	63,3 ab
100	15 ab	56,7 ab
150	11,7 ab	63,3 ab
200	8,3 b	46,7 b

*Médias comparadas pelo teste de Tuckey a 5%.

O aumento inicial da germinação verificado pelo teste de primeira contagem neste experimento com o uso de baixas doses de radiação gama foi igualmente constatado por DOBRINOV & ATANASOVA (1967) em *Picea abies* e *Pinus mugo* e DIUDIC (1961) em *Pinus nigra*.

Já com relação as demais doses, observamos um decréscimo na porcentagem de germinação aos 7 e aos 14 DAS em relação ao controle conforme o aumento da dose excetuando a dose de 150 aos 7 DAS que manteve percentual similar ao controle (Tab. 1).

Segundo Gusman et al., citados por Santos (1993), elevados teores de água aumentam a atividade metabólica intensificando a vulnerabilidade das sementes à radiação, uma vez que a água atua como meio de difusão de mutagênicos físicos e químicos, bem como de radicais livres resultantes do processo de radiação.

Assim analisamos a atividade das enzimas de reparo onde as análises enzimáticas no tecido radicular mostraram um aumento da atividade enzimática da SOD conforme aumento da dose de radiação, no entanto podemos observar na dose de 150Gy um decréscimo na sua atividade (Fig. 1A).

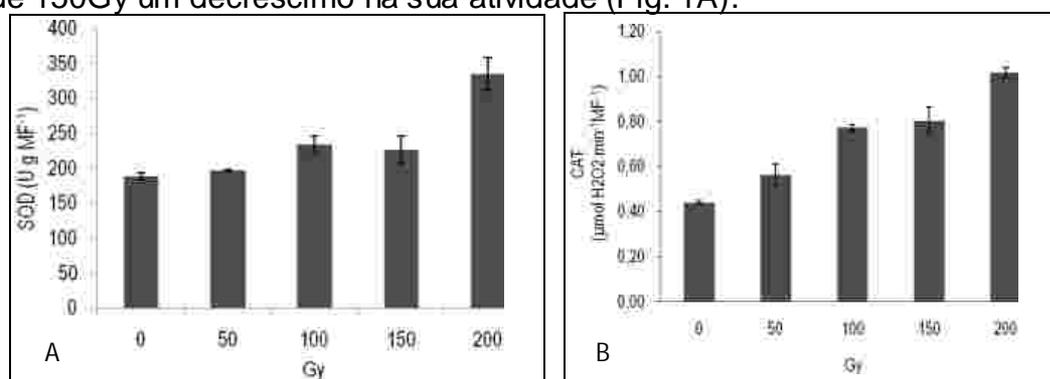


Figura 1- Atividade das enzimas antioxidantes no tecido radicular de plantulas de mamona cv BRS Energia submetidas a diferentes doses de radiação gama. A. Enzima superóxido dismutase. B. Enzima catalase.

Para a enzima CAT observamos comportamento similar ao da SOD, havendo um aumento da sua atividade, nas doses acima de 50 Gy (Fig. 1B).

Este aumento de atividade da enzima SOD conforme o aumento da dose de radiação gama também foi descrito por Al-Rumaih & Al-Rumaih (2008) para três espécies de *Trigonella*. Estes autores associam a alta atividade da SOD com tolerância a estresse em plantas onde a superprodução de O₂⁻ está envolvida. Inze e Van Montagu (1995) atribuem a estimulação da SOD a uma regulação positiva dos genes SOD em resposta a baixas doses de irradiação crônica.

De acordo com Wada et. al (1998) a radiação induz aumento na atividade de algumas enzimas antioxidantes como catalase e superóxido dismutase, porém doses muito altas levam ao acúmulo de danos nas células que podem interferir na atividade enzimática obtendo respostas variáveis.

4. CONCLUSÃO

Doses baixas de radiação gama, em torno de 50Gy promovem aumento inicial de germinação das sementes, ocorrendo assim uma emergência mais rápida que nas demais doses.

Observou-se um aumento da atividade enzimática diretamente relacionada ao processo oxidativo à medida que a dose aumenta quando comparada as sementes não submetidas a este tipo estresse.

5. REFERÊNCIAS

AMORIM NETO, M. da S.; BELTRÃO, N. E.; de M.; SILVA, L. C.; ARAÚJO, A.E. de; AZEVEDO, D. M. P. DE; LIMA, E. F.; BATISTA, F. A S.; BELTRÃO, N.E. de M.;

- SOARES, J.J.; VIEIRA, R.M. de; MOREIRA, J. A. M.; **Recomendações técnicas para o cultivo de mamoneira *Ricinus communis* L. no nordeste do Brasil.** Campina Grande: Embrapa – CNPA, 39p. (Embrapa – CNPA. Circular técnica, 25) 1997.
- BONNEFOY, M.; DRAY, J.; KOSTKA, T. Antioxidants to slow aging, facts and perspectives (2002).
- DIUDIC, M. Stimulation of growth of young *Pinus nigra* seedlings resulting from exposing seeds to ionising radiation. **Sumarstvo**, v.13, n.7/8p.375-82, 1960. Apud: Forestry abstracts, Oxford, v. 22, 1961
- DOBRINOV, I. & ATANASOVA, M. Effect of gamma radiation on seeds of some coniferous species. **Forsko stopanstvo**, v.23, n.2, p.17-21. Apud: Forestry abstracts, Oxford, 28, 1967.
- INZI, D.; VAN MONTAGU, M., Oxidative stress in plants. **Current Opinion in Biotechnol.**, v.6, p. 153-158. 1995.
- FRIDOVICH, I. Oxigen toxicity: a radical explanation. **J. EXP. BIOL.** 201:1-15, 1998.
- HAQ, M.S. Breeding for early, high-yielding and disease-resistant rice varieties through induced mutations. In: **RICE BREEDING WITH INDUCED MUTATIONS III**, IAEA, Vienna, p.35-46, 1971.
- MUNA M. Al-Rumaih; MAY M. Al-Rumaih. Influence of Ionizing Radiation on Antioxidant Enzymes in Three Species of Trigonella **American Journal of Environmental Sciences**, v. 4, n.2,p. 151-156, 2008
- OKUNO, E. **Radiação: efeitos, riscos e benefícios.** São Paulo: Harbra, 1988.
- PIMENTEL, M.C.G. **Indução de aberrações cromossômicas estruturais em milho (*Zea mays* L.) por radiação gama.** 1990. 131f. Dissertação (Mestrado Genética e Melhoramento) - Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, UFV, Viçosa, MG.
- ROCHA, M. do S.; OLIVEIRA, M.I.P.; AZEVEDO; C.F.; LUCENA, A.M.A.; BELTRÃO, N.E. de M.; CARVALHO, J.F.C.; ALMEIDA, F. de A.C.; BRUNO, R. de L.A. Caracterização morfoanatómica da cultivar BRS Energia (*Ricinus communis* L.). In: **III CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA – ENERGIA E RICINOQUÍMICA**, Salvador, 2008.
- SANTOS, M.V.F.D.L. **Resposta à radiação gama em sementes de milho (*Zea mays* L.) sob a influência de agentes físicos e químicos.** Viçosa, 1993. 131p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - UFV, 1993.
- SIES, H. Strategies of antioxidant defense. Review. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v.215, n.2, p.213- 219, 1993.
- SALVADOR, M.; HENRIQUES, J.A.P. **Radicais Livres e a Resposta ao Estresse Oxidativo.** Canoas, ed ULBRA, 2004.
- WADA, H.; KOSHIBA T.,. MATSUI T.,. SATÔ, M. Involvement of peroxidase in differential sensitivity to γ -radiation in seedlings of two *Nicotiana* species, **Plant Science**, v.132, n.2, p. 109-119, 1998,