

EFEITOS DA RADIAÇÃO COBALTO-60 SOBRE O METABOLISMO DAS ENZIMAS ANTIOXIDATIVAS EM PLÂNTULAS DE MAMONA (*Ricinus communis* L.)

LOPES, Amanda Moreira¹; CUCHIARA, Cristina Copstein¹; BORGES, Clarissa de Souza¹; DEUNER, Sidnei²; SILVA, Sérgio Delmar dos Anjos e³; BOBROWSKI, Vera Lucia¹.

¹Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Zoologia e Genética, Laboratório de Genética, CP 354, CEP 96010-970, Pelotas, RS, Brasil, fone (53) 91659868, e-mail: amandalopesbio@hotmail.com; ²Departamento de Botânica; ³Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado, EMBRAPA, Pelotas, RS, Brasil.

1. INTRODUÇÃO

A mamona (*Ricinus communis* L.) é uma Euphorbiaceae de origem tropical com ampla adaptação e atualmente tem se tornado uma opção promissora economicamente para a agricultura, porém é importante investir em pesquisa básica para um melhor conhecimento da fisiologia desta espécie. Na busca por características interessantes agronomicamente com potencial genético e produtivo das cultivares existentes, 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), sendo o seu efeito influenciado por diversos fatores.

As respostas do material biológico a agentes mutagênicos são dependentes de uma interação complexa entre o mutagênico e o material biológico ou entre este e as substâncias formadas pelo mutagênico no organismo vivo, como por exemplo, substâncias oxidativas e radicais livres (Miranda, 2008).

Em plantas, os radicais livres são geradas em níveis significantes por reações intrínsecas à fotossíntese, a fotorrespiração, fosforilação oxidativa, β -oxidação de ácidos graxos e atividade de vários tipos de oxidases (Alscher *et al.*, 1997). Porém, em condições normais, a geração e a remoção de radicais livres apresentam um balanço apropriado, o qual requer a coordenação eficiente de reações de diferentes compartimentos celulares e é governado por uma rede complexa de sistemas pro-oxidantes e antioxidativos (Foyer & Noctor, 2005).

O sistema antioxidante das plantas inclui tanto componentes não enzimáticos como enzimas desintoxicantes (Noctor & Foyer, 1998). Entre estas enzimas estão as dismutases do superóxido (SODs), as catalases (CATs) e as peroxidases do ascorbato (APXs).

O presente estudo objetivou avaliar o efeito da radiação gama sobre a atividade antioxidante das enzimas dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX) em sementes de mamona.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Primeiramente foi retirada a carúncula das sementes de mamona da cultivar IAC-80, posteriormente estas foram pré-embebidas e irradiadas com radiação gama cobalto-60 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 (nas doses de 0, 50 e 100 Gy) e colocadas para germinar em papel germitest na forma de rolos em câmara de germinação tipo BOD com temperatura média de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 7 dias.

Para a análise das enzimas antioxidantes, 500 mg de tecido radicular foram macerados 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 PVPP. Os homogeneizados foram centrifugados a 13000 g, durante 20 minutos a 4°C . O sobrenadante foi coletado para a análise da atividade específica das enzimas dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX).

Dismutase do superóxido

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 0,1 μM e riboflavina 2 μM . Os tubos com o meio de reação e a amostra foram iluminados, por 7 minutos, com uma lâmpada fluorescente de 20W. Para o controle, o mesmo meio de reação sem a amostra foi iluminado. O branco foi mantido no escuro. As leituras foram realizadas a 560 nm e o cálculo da atividade da enzima feito com a seguinte equação: % de inibição = $(A_{560} \text{ amostra com extrato enzimático} - A_{560} \text{ controle sem enzima}) / (A_{560} \text{ controle sem enzima})$. Uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições do ensaio.

Catalase

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 H_2O_2 12,5mM, incubado a 28°C em que foi monitorado o consumo do peróxido de hidrogênio.

Peroxidase do ascorbato

A atividade da APX foi realizada segundo Nakano & Asada (1981), monitorando-se a taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm. O tampão de incubação foi composto por fosfato de potássio 50mM, pH 7,0, ácido ascórbico 0,5mM e H_2O_2 0,1mM.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos através das análises enzimáticas mostraram um aumento da atividade enzimática da SOD conforme aumento da dose de radiação, como demonstrado na Figura 1.

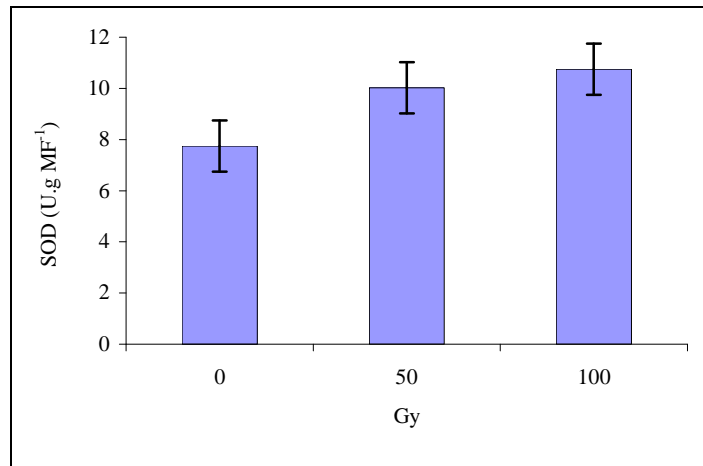


Figura1: Atividade da enzima Dismutase do Superóxido

No entanto para as enzimas CAT e APX houve um aumento expressivamente superior ao controle, apenas para aquelas sementes irradiadas com uma dosagem de 100 Gy, conforme podemos analisar nas Figuras 2 e 3 respectivamente.

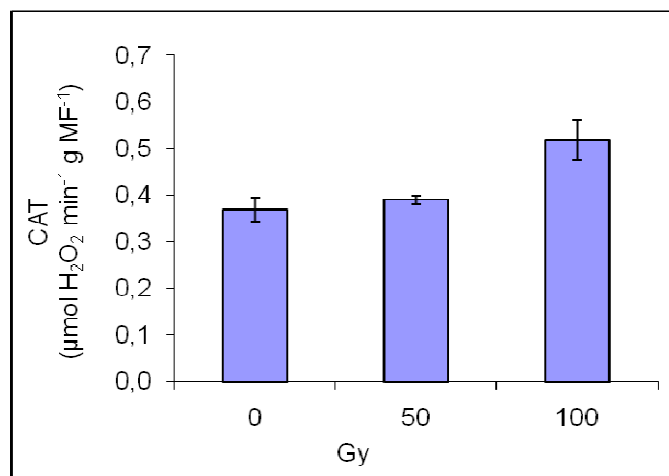


Figura 2: Atividade da enzima Catalase

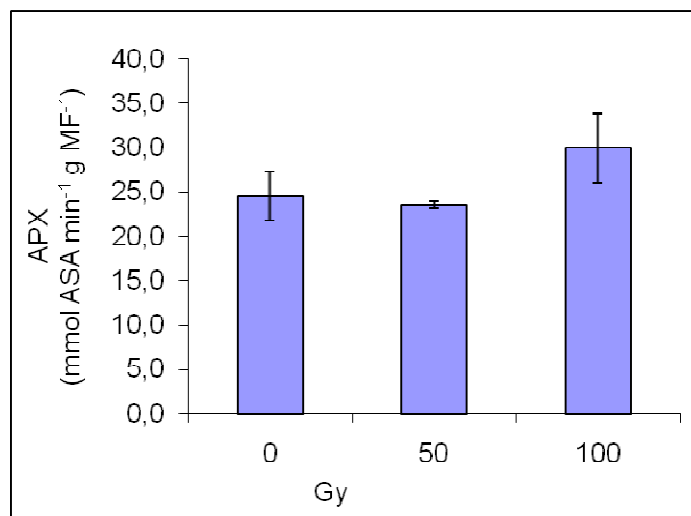


Figura 3: Atividade da enzima Peroxidase do ascorbato.

4. CONCLUSÕES

Como esperado observou-se um aumento da atividade das enzimas diretamente relacionadas ao processo oxidativo, pois o principal alvo da radiação nos tecidos é a molécula de água que ao sofrer radiólise libera radicais livres altamente reativos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALSCHER, R.G., DONAHUE, J.L., CRAMER, C.L. Reactive Oxygen species and antioxidants - Relationships in green cells. **Physiologia Plantarum**, 16, 224 – 233 p., 1997.

FOYER, C.H., NOCTOR, G. Oxidant and antioxidant signaling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. **Plant, Cell and Environment**, 28, 1056 – 1071p.,2005.

MIRANDA, H.L.C., BOBROWSKI, V.L., TILLMANN, M.A.A., DODE, L.B., MENEGHELLO, G.E. **Qualidade fisiológica de sementes de arroz submetidas à radiação gama**. Ciência Rural, 39 (5), 1320-1326p., ago, 2009.

NOCTOR, G., FOYER, C.H. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, 49, 249 – 279 p.,1998.

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.

PLEWA, M.J.; DOWD, P.A.; SCHY, W.E.; WAGNER, E.D. Induced forward mutation at the *yg2* locus and a comparison with the ABCW relationship. **Maize Genetics Cooperation Newsletter**, Columbia, 57, 147-149 p., 1983.