

ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM PLÂNTULAS DE SEMENTES DE MAMONA CV IAC 80 IRRADIADAS COM COBALTO-60

LOPES, Amanda Moreira¹; VIANA, Vivian Ebeling¹; ARANALDE, Gabriela Bierhals¹; DEUNER, Sidnei²; SILVA, Sérgio Delmar dos Anjos e³; BOBROWSKI, Vera Lucia¹.

¹Mestranda em Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Zoologia e Genética, Laboratório de Genética. e-mail: amandalopesbio@hotmail.com Fone: (53) 91659868.

²Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Botânica.

³Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado, EMBRAPA, Pelotas, RS, Brasil.

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., 1999). Das suas sementes se extrai industrialmente um óleo de excelentes propriedades, de largo uso como insumo industrial (Rodrigues Filho, 2000). Atualmente o cultivo de mamona tem se tornado uma opção promissora economicamente para a agricultura, porém é ainda necessário e 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. Através do uso de radiações ionizantes foram obtidos mutantes com características de maior produtividade, precocidade, menor porte, maior resistência à doenças e pragas utilizados na obtenção de novas variedades (Haq, 1971).

Em plantas, os radicais livres são gerados 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 presente estudo objetivou avaliar o efeito da radiação gama sobre as enzimas antioxidantes dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX) em plântulas de mamona cv. IAC 80.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de mamona, cultivar IAC-80, foram pré-embebidas e irradiadas com radiação gama cobalto-60 utilizando fonte de Cobalto-60 "Eldorado 78" do Centro de Oncologia, do Departamento de Radiologia, da Faculdade de

Medicina, UFPel (nas doses de 0, 50, 100, 150 e 200 Gy) e colocadas para germinar em papel germiteste na forma de rolos a 25 °C por 14 dias.

Para a análise das enzimas antioxidantes, 500 mg de tecido radicular e 200mg de tecido de parte aérea 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).

A enzima dismutase do superóxido 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. 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 560nm.

O ensaio da catalase: foi avaliada pelo decréscimo na absorbância 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.

A atividade da peroxidase do ascorbato: foi realizada segundo Nakano & Asada (1981), monitorando-se a taxa de oxidação do ascorbato a 290nm. O tampão de incubação foi composto por fosfato de potássio 50mM, pH 7,0, ácido ascórbico 0,5mM e H₂O₂ 0,1mM.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos através das análises enzimáticas demonstraram um aumento conforme a dose da radiação sofrendo apenas uma variação na dosagem de 150 Gy onde esta foi inferior a dose de 100 Gy, mas ainda sim superior ao tratamento controle (Figura 1A), e para a parte aérea houve aumento da atividade enzimática da SOD nas doses de 50 e 100 Gy no sistema radicular e uma diminuição nas doses de 150 e 200 Gy (Figura 1B).

A avaliação da enzima CAT mostrou um aumento da atividade enzimática em todos os tratamentos. No sistema radicular, houve aumento da atividade enzimática, no entanto, a dose de 50 Gy mostrou comportamento similar ao controle (0 Gy) e a dose de radiação de 150 Gy mostrou-se inferior a de 100 Gy mas ainda sim com mais atividade que os menores tratamentos (Figura 1C). Já para o experimento utilizando parte aérea, os tratamentos intermediários de 50 e 100 Gy apresentaram uma maior atividade da CAT que os demais tratamentos testados (Figura 1D).

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

A atividade da enzima APX na parte aérea pode se notar um aumento da atividade enzimática de acordo com o aumento da dose de radiação (Figura 1E). No entanto para a parte aérea notou-se um aumento da atividade enzimática na dose de 50 e 100 Gy e um decréscimo nas 150 e 200 Gy de acordo com o aumento da dose de radiação (Figura 1F).

Estes resultados diferem dos obtidos por Zaka et al. (2002) que avaliaram a atividade da APX em folhas e observaram que não houve aumento nos tratamentos com solo de regiões contaminadas com radiação.

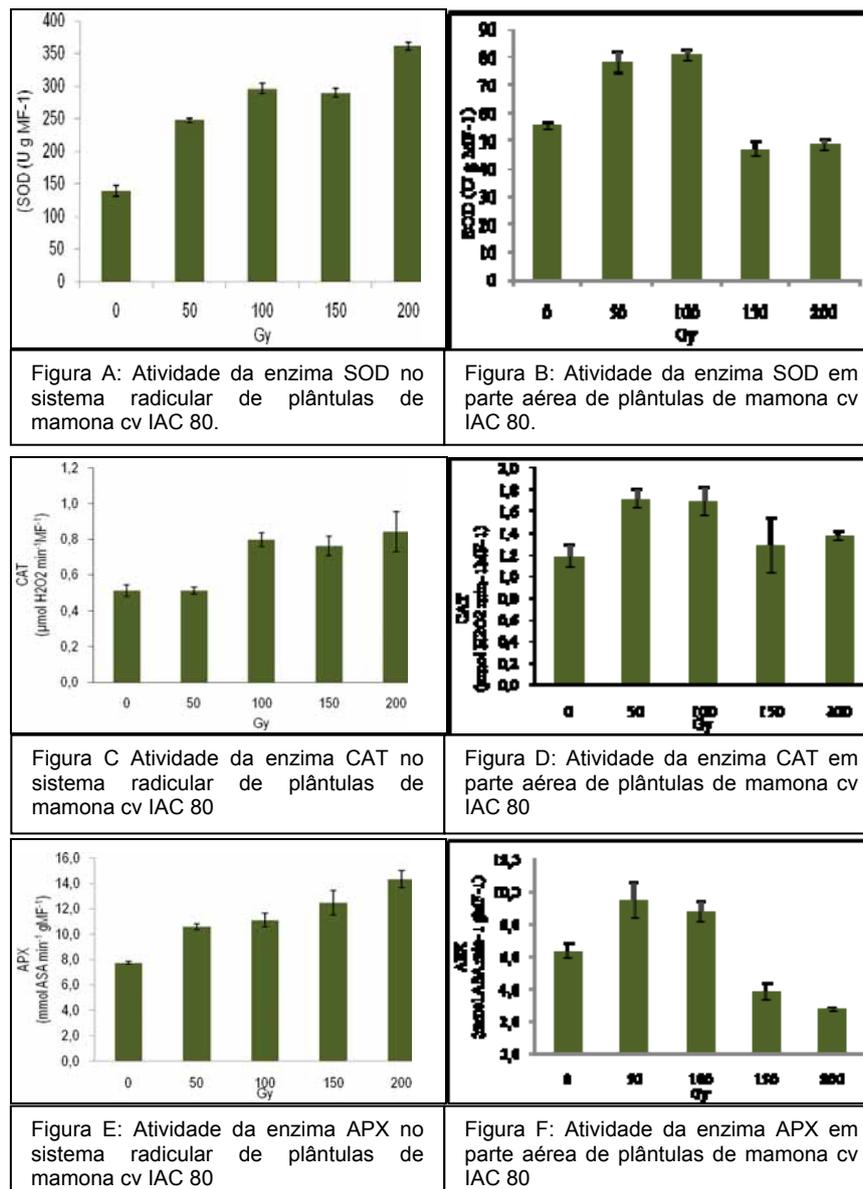


Figura 1. Avaliação da atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase em parte aérea e sistema radicular de plântulas de mamona cv IAC 80 submetidas a diferentes doses de radiação.

4 CONCLUSÕES

Observou-se um aumento da atividade enzimática das enzimas relacionadas ao processo oxidativo conforme o aumento das doses utilizadas quando analisado em sistema radicular.

Enquanto que para a atividade enzimática na parte aérea, doses acima de 150Gy causaram danos ao sistema antioxidativo.

5 REFERÊNCIAS

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.

AMORIM NETO, M. DA S.; ARAÚJO, A. E. DE; BELTRÃO, N. E. DE M. CLIMA E SOLO. IN: AZEVEDO, D. M. P. DE; LIMA, E. F. **O agronegócio da mamona no Brasil**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 1999. p. 63-76. 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.

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.

RODRIGUES FILHO, A. *A cultura da mamona*. Belo Horizonte: EMATER-MG, 2000. 20 p. (Boletim técnico).

WADA, H., KOSHIDA, 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.

ZAKA, R., VANDECASTEELE, C. M., MISSET, M. T. Effects of low chronic doses of ionizing radiation on antioxidant enzymes and G₆PDH activities in *Stipa capillata* (Poaceae), **J. Exp. Bot.**, v. 53, n.376, p.1979-1987, 2002.