

ANÁLISE DA AÇÃO DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM PLÂNTULAS DE MAMONA (*Ricinus Communis* L.) CV BRS ENERGIA IRRADIADAS COM COBALTO-60

VIANA, Vívian Ebeling¹
LOPES, Amanda Moreira²
ARANALDE, Gabriela Bierhals²
SILVA, Sergio Delmar dos Anjos³
DEUNER, Sidnei⁴
BOBROWSKI, Vera Lucia²

¹Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Zoologia e Genética – Bolsista PIBIC-CNPq

²Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Zoologia e Genética

³Centro de Pesquisas Agropecuárias de Clima Temperado - EMBRAPA

⁴Universidade Federal de Pelotas, Instituto de Biologia, Departamento de Botânica

1 INTRODUÇÃO

A mamoneira (*Ricinus communis* L.) é uma oleaginosa de destacada importância no Brasil e no mundo. 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).

Vários tipos de estresses podem provocar o aumento na produção de intermediários reativos de oxigênio (ROIs), os quais podem causar sérios danos estruturais e ao metabolismo. 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 BRS Energia.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Genética do Departamento de Zoologia e Genética, IB/UFPel em Pelotas-RS. Foram utilizadas 90 sementes da cultivar BRS energia, cedidas pelo CPACT-Embrapa - Pelotas, RS.

As sementes foram pré-embebidas durante 24 horas e submetidas à radiação gama cobalto-60 nas doses de 0, 50, 100, 150 e 200 Gy e colocados em papel germitest em forma de rolos à 25°C por 14 dias.

Foram avaliadas a atividade enzimática tanto na parte aérea quanto na raiz, para tanto, foram macerados separadamente 500 mg tecido radicular e 100mg de parte aérea 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. Para análise das enzimas antioxidantes na raiz, foram macerados em 2 mL de tampão de extração contendo os mesmos compostos.

Logo após, em separado, foram centrifugados a 13000 RPM, durante 20 minutos a 4°C. O sobrenadante foi coletado para a análise da atividade das enzimas dismutase do superóxido (SOD), catalase (CAT) e peroxidase do ascorbato (APX). A atividade da SOD foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotoredução 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 fotoredução do NBT nas condições do ensaio.

A CAT 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 enquanto a atividade da APX 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 DISCUSSÕES

As análises enzimáticas no tecido radicular mostraram um aumento da atividade enzimática da SOD conforme aumento da dose de radiação, como demonstrado na Figura 1.

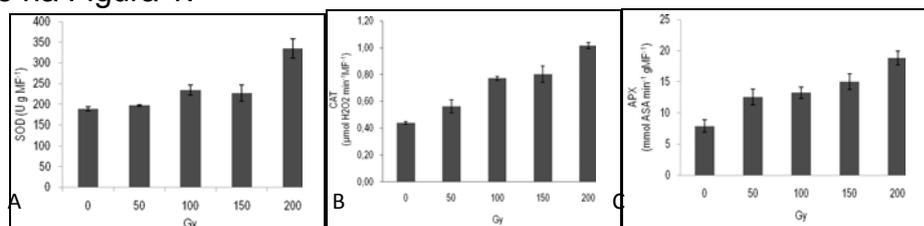


Figura 1- Atividade das enzimas antioxidantes no tecido radicular de plantulas de mamona cv BRS Energia submetidas a diferentes doses de radiação gama. A. Enzima superóxido dismutase. B. Enzima catalase e C. Peroxidase do ascorbato.

No entanto para as enzimas CAT e APX houve um aumento maior da sua atividade que o controle, apenas para aquelas sementes irradiadas com uma dosagem de 100 Gy, conforme podemos analisar na Figura 1.

Nas análises da ação da atividade enzimática na parte aérea, os resultados obtidos, em ambas as cultivares, mostraram um aumento da atividade enzimática da SOD nas doses de 50 e 100 Gy e uma diminuição na nas doses de 150 e 200 Gy conforme demonstrado na figura 2.

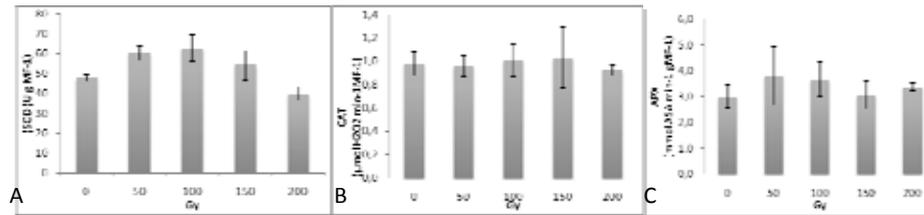


Figura 2 - Atividade das enzimas antioxidantes no tecido foliar de plantulas de mamoneira cv BRS Energia submetidas a diferentes doses de radiação gama. A. Enzima superóxido dismutase. B. Enzima catalase e C. Peroxidase do ascorbato.

Para a enzima CAT observamos uma resposta similar em todas as doses testadas (Figura 2). 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.

Já para a enzima APX podemos verificar, em ambas as variedades, um aumento da atividade enzimática na dose de 50 e 100 Gy e um decréscimo nas doses de 150 e 200 Gy quando comparadas ao controle (Figura 2). 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.

4 CONCLUSÕES

No sistema radicular observou-se um aumento da atividade das enzimas diretamente relacionadas ao processo oxidativo. Na parte aérea em doses acima de 150 Gy houve alteração no sistema de resposta das enzimas antioxidantes diminuindo a resposta do sistema antioxidante.

5 REFERÊNCIAS

- ALSCHER, R.G., DONAHUE, J.L., CRAMER, C.L. Reactive Oxygen species and antioxidants - Relationships in green cells. **Physiologia Plantarum**, v.16, p. 224 – 233, 1997.
- 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.
- 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**, v.p.28, 1056 – 107, 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**, v.39, n.5, p.1320-1326, ago, 2009.

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

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.