

## Radiossensibilidade em plântulas de arroz irrigado: potencial de crescimento e capacidade antioxidante

Scheer da Silva, Aline<sup>1</sup>; Rodrigo Danielowski<sup>1</sup>; Eugenia Jacira Bolacel Braga<sup>1</sup>; Sidnei Deuner<sup>1,3</sup>; Ariano Martins de Magalhães Jr<sup>2</sup>; José Antonio Peters<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biologia, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Campus Universitário S/N, Caixa Postal 354 - 96010-900. Capão do Leão - RS, Brasil; <sup>2</sup>Pesquisador Embrapa Clima Temperado, BR 392, km 78, 96010-971. Pelotas - RS, Brasil; <sup>3</sup>sdeuner@yahoo.com.br

Scheer da Silva, Aline; Rodrigo Danielowski; Eugenia Jacira Bolacel Braga; Sidnei Deuner; Ariano Martins de Magalhães Jr; José Antonio Peters (2012) Radiossensibilidade em plântulas de arroz irrigado: potencial de crescimento e capacidade antioxidante. Rev. Fac. Agron. Vol 111 (2): 83-90.

A variabilidade disponível dentro da espécie é fundamental para a obtenção de cultivares superiores, sendo a radiação gama uma ferramenta adicional na busca deste propósito. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito de diferentes doses de radiação gama  $Co^{60}$  na emergência, crescimento inicial e atividade antioxidante em plântulas de duas cultivares de arroz. Sementes das cultivares BRS Querência e BRS Fronteira, com 13% de umidade, foram irradiadas com 200, 250, 300 e 350 Gy, além do tratamento controle, não irradiado. Depois de estabelecidos os tratamentos, as mesmas foram semeadas em bandejas contendo como substrato solo e mantidas em casa de vegetação. O material vegetal foi avaliado quanto a parâmetros morfofisiológicos e atividade de enzimas antioxidantes. A emergência das plântulas foi afetada negativamente em doses superiores a 250 Gy, já os parâmetros de crescimento avaliados aos 14 dias após a semeadura apresentaram expressiva variação entre as cultivares, sendo a cv. BRS Fronteira menos sensível a radiação. Este comportamento pode estar associado à maior atividade da enzima superóxido dismutase aos sete dias após a semeadura, uma vez que nas sementes, as enzimas avaliadas apresentaram variação menos expressiva. A atividade da catalase apresentou redução nas duas cultivares, principalmente aos 14 dias e a ascorbato peroxidase, que apresenta maior afinidade na remoção do  $H_2O_2$ , aumentou significativamente nas duas cultivares aos sete e 14 dias, com maior intensidade na cv. BRS Fronteira aos sete dias, caracterizando seu melhor desempenho frente à radiação e a variabilidade existente entre as duas cultivares.

**Palavras chave:** *Oryza sativa* L., radiação gama, variabilidade.

Scheer da Silva, Aline; Rodrigo Danielowski; Eugenia Jacira Bolacel Braga; Sidnei Deuner; Ariano Martins de Magalhães Jr; José Antonio Peters (2012) Radiosensitivity in irrigated rice seedlings: growth potential and antioxidant capacity. Rev. Fac. Agron. Vol 111 (2): 83-90.

The variability within the species available is critical to obtaining superior genotypes, and the gamma radiation with an additional tool in pursuing this purpose. Thus, the objective of this study was to evaluate the effect of different doses of  $Co^{60}$  gamma radiation on emergence, early growth and antioxidant activity in seedlings of two rice cultivars. Seeds of BRS Querência and BRS Fronteira, with 13% moisture, were irradiated with 200, 250, 300 and 350 Gy, besides the control, not irradiated. Once the treatments were established, the seeds were sown in trays containing soil as substrate and maintained in a greenhouse. The plant material was evaluated on morphophysiological parameters and antioxidant enzymes activity. The seedling emergence was negatively affected at doses above 250 Gy. The growth parameters evaluated at 14 days after sowing showed significant variation among cultivars, displaying cv. BRS Fronteira reduced sensitivity to radiation. This behavior may be associated with increased activity of superoxide dismutase at seven days after sowing, since in the seeds, the enzyme activity evaluated showed a variation less expressive. Catalase activity decreased in both cultivars, especially at 14 days and ascorbate peroxidase, which has a higher affinity to remove  $H_2O_2$ , increased significantly in both cultivars at seven and 14 days, specially in cv. BRS Fronteira at seven days, featuring its best performance against radiation and variability between these two cultivars.

**Key words:** *Oryza sativa* L., gamma radiation, variability.

Recibido: 13/04/2012

Aceptado: 12/11/2012

Disponível on line: 15/01/2013

ISSN 0041-8676 - ISSN (on line) 1669-9513, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina

## INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) está entre os mais importantes cereais cultivados e apresenta grande importância no consumo da população mundial, onde mais de um terço o utiliza em sua alimentação básica. Nos últimos 30 anos, o crescimento na produção de arroz tem sido alcançado principalmente pelo aumento na produtividade, mas, apesar dos enormes ganhos em rendimento, maiores estudos a cerca da identificação e indução de variabilidade genética são necessários para o seu melhoramento genético (Tabasum et al., 2011).

Em virtude da estreita base genética para variáveis de interesse econômico, a busca por cultivares de arroz com características agrônomicas superiores é uma constante preocupação entre os melhoristas. Dentre as cultivares lançadas pelas instituições de pesquisa da região sul do Brasil, nos últimos anos, destacam-se a “BRS Querência” e “BRS Fronteira” que, embora produtivas, apresentam várias características que necessitam ser melhoradas.

Mutações induzidas, através de irradiação, têm sido utilizadas como fontes de variabilidade genética em gramíneas (Stadler, 1928), constituindo até hoje, uma ferramenta de sucesso no melhoramento de milhares de novas cultivares. A radiação gama é considerada um dos principais indutores de mutações e de aberrações cromossômicas estruturais, e as mudanças morfofisiológicas que beneficiam a espécie em questão é uma das principais utilidades desta técnica no melhoramento genético (Hung & Johnson, 2008). Estudos sobre os efeitos das radiações ionizantes em plantas cultivadas são conduzidos mediante a irradiação de sementes, plântulas e plantas em diversos estádios de desenvolvimento e, percentagem de germinação, emergência, sobrevivência das plântulas, desenvolvimento e produção final das plantas são critérios comumente utilizados na avaliação da radiossensibilidade (Fu et al., 2008; Hung & Johnson, 2008). Através desta técnica tem sido obtidos mutantes com maior produtividade, precocidade, menor porte, maior resistência a doenças, pragas e acamamento em diversas espécies (Mikaelsen, 1971).

Em arroz, mais de 400 cultivares mutantes foram relatadas pela FAO/IAEA (Fu et al., 2008). No mercado brasileiro, a chegada de cultivares ClearField (CL) de arroz irrigado, oriundas de uma mutação induzida, facilitou o controle químico do arroz-vermelho, apresentando excelentes resultados no controle das principais plantas daninhas nas lavouras orizícolas do estado do Rio Grande do Sul (RS). Atualmente estima-se que a área semeada com a cultivar registrada para o estado, IRGA 422 CL, supere 30% do total. No entanto, o emprego de uma única cultivar com esta característica gera vulnerabilidade genética para o arroz irrigado e pode expor as lavouras a riscos de ordem ambientais, tanto bióticos como abióticos (Fagundes & Andres, 2008).

O melhoramento genético através do uso de mutações induzidas em diversas culturas tem provado ser um método eficaz na melhoria da qualidade, produtividade e resistência a estresses bióticos e abióticos (Nichterlain et al., 2000; Bibi et al., 2009). Desta forma, o entendimento dos mecanismos fisiológicos e bioquímicos desencadeados em resposta ao estresse imposto é fundamental no processo de seleção de plantas mais resistentes. Uma alteração metabólica importante para as

plantas em condições de estresse é o aumento da produção de espécies reativas ao oxigênio (EROs) (Foyer & Noctor, 2005), as quais, podem ser vistas tanto como indicadores celulares de estresse, como mensageiros secundários envolvidos na via de transdução de sinais na resposta ao estresse (Mittler, 2002). As principais formas de EROs são o radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ). A aceitação de excesso de energia pela molécula de oxigênio ( $O_2$ ) pode levar adicionalmente a formação do oxigênio singleto ( $^1O_2$ ), molécula altamente reativa. Quantidades mais elevadas destas EROs ocasionam o estresse oxidativo caracterizado por severas injúrias, como desintegração de clorofila, fragmentação do DNA, extravasamento iônico, modificações protéicas, peroxidação de lipídios e, finalmente, morte celular (Moller et al., 2007).

Para evitar o acúmulo das EROs e proteger as células dos danos oxidativos, as plantas possuem um sistema de defesa antioxidante enzimático e não-enzimático que permite a sua detoxificação. Tal mecanismo de defesa requer a ação de diversas enzimas antioxidantes atuando em sincronia, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), entre outras. A atividade destas enzimas vem sendo relacionada às respostas das plantas aos estresses abióticos (Gratão et al., 2005).

Desta forma, para que pesquisas com irradiação tenham sucesso na obtenção de mutantes e conseqüentemente na formação de novas cultivares, é importante conhecer o quanto essas irradiações atuam nos estádios iniciais do desenvolvimento das plantas. Assim, o presente trabalho teve por objetivo verificar o efeito de diferentes doses de radiação gama  $Co^{60}$  na emergência, crescimento inicial e atividade de enzimas antioxidantes em plântulas de arroz das cultivares BRS Querência e BRS Fronteira, buscando identificar possíveis fontes de variabilidade.

## MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de arroz das cultivares BRS Querência e BRS Fronteira, cedidas pelo Centro de Pesquisa da Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, foram irradiadas com raios gama, provenientes de uma fonte de Cobalto<sup>60</sup> ( $Co^{60}$ ) “Eldorado 78” (Atomic Energy of Canadá Ltda). Foram aplicadas doses de 200, 250, 300, 350 Gy, obtidas através da variação do tempo de exposição das sementes a radiação, com taxa de 15,24 Gy por minuto, além do tratamento controle, não irradiado. Para cada cultivar e dose, foram utilizadas 500 sementes com 13% de umidade, as quais foram imediatamente semeadas em bandejas plásticas contendo como substrato solo tipo Planossolo Háplico, típico na cultura do arroz, cuja umidade foi mantida através de irrigação manual.

Inicialmente foi determinada a percentagem de emergência, aos cinco e 14 dias após a semeadura (DAS) e o índice de velocidade de emergência (IVE) obtido pela contagem diária do número de plântulas emergidas até a estabilização do estande. O IVE foi calculado pela fórmula descrita por Popinigis (1977). Para estas avaliações, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x5 (duas cultivares e cinco doses de radiação) com seis repetições e a unidade experimental composta por 80 sementes.

Os parâmetros de crescimento foram avaliados em plântulas aos 14 DAS, sendo a unidade experimental composta por 10 plântulas e seis repetições. Para tanto, as plântulas foram coletadas ao acaso e avaliadas quanto à altura da plântula (cm), número de folhas por plântula, comprimento da raiz principal (cm), massa seca da parte aérea e do sistema radicular (g) e a razão entre as partes, após secagem do material em estufa a 72°C durante 72 horas.

A atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) foi quantificada a partir de extratos vegetais obtidos da maceração de sementes logo após a irradiação e plântulas aos sete e 14 DAS. Desta forma, 200 mg de cada material vegetal foram macerados e homogeneizados em polivinilpolipirrolidona (PVPP) 20%, acrescido do tampão de extração composto por fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), EDTA 0,1 mM e ácido ascórbico 1 mM. Os homogeneizados foram centrifugados a 13.000 rpm, por 20 minutos a 4°C e o sobrenadante coletado para posteriores análises enzimáticas.

A atividade da SOD foi avaliada pela capacidade da enzima em inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) (Giannopolitis & Ries, 1977) em um meio de reação composto por fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), metionina 14 mM, EDTA 0,1 µM, NBT 75 µM e riboflavina 2 µM. As leituras foram realizadas a 560 nm, sendo que uma unidade da SOD corresponde à quantidade de enzima capaz de inibir em 50% a fotorredução do NBT nas condições de ensaio.

A atividade da CAT foi determinada conforme descrito por Azevedo et al. (1998) com algumas modificações, onde a atividade foi monitorada pelo decréscimo na absorvância a 240 nm, durante 2 minutos em meio de reação incubado a 28°C, contendo 100 mM de tampão fosfato de potássio (pH 7,0) e 12,5 mM de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). E 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 100 mM (pH 7,0), ácido ascórbico 0,5 mM e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,1 mM.

Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância, comparados pelo teste de médias (Tukey) a 5% de probabilidade e regressão polinomial, através do

Sistema de Análise Estatística - SANEST (Zonta & Machado, 1984).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A percentagem de plântulas emergidas aos cinco dias após a semeadura (DAS), embora com valores ainda pouco expressivos, para a cv. BRS Querência foi superior no tratamento com 250 Gy (25,7%), não apresentando plântulas emergidas nas doses de 300 e 350 Gy, e, para a cv. BRS Fronteira, a maior percentagem foi observada no tratamento controle (22,0%), diferindo significativamente dos tratamentos irradiados (Tabela 1). Aos 14 DAS, a percentagem de plântulas emergidas alcançou valores expressivamente superiores, destacando o tratamento com 200 Gy na cv. BRS Querência (90,9%) e com 250 Gy na cv. BRS Fronteira (84,7%), os quais diferiram significativamente dos demais tratamentos, sendo os valores mais baixos observados nos tratamentos com 300 e 350 Gy para as duas cultivares.

Resultados similares foram obtidos por Cheema & Atta (2003), onde doses de 150 e 200 Gy não afetaram drasticamente a emergência das plântulas de arroz de três cultivares avaliadas a campo, reduzindo significativamente apenas nas doses de 250 e 300 Gy. Já, Tabasum et al. (2011) avaliando a germinação das sementes de três cultivares de arroz irradiadas com doses de até 400 Gy, observaram diferença significativa somente no comportamento entre as cultivares, não diferindo para as diferentes doses de radiação. Em trabalho similar, Silva et al. (2011) submetendo sementes das mesmas cultivares do presente estudo (BRS Querência e BRS Fronteira), porém com 25% de umidade e até doses de radiação de 200 Gy, observaram que a emergência das plântulas reduziu significativamente a partir da dose de 100 Gy. Desta forma, o estudo do efeito de doses de radiação gama sobre a emergência é importante para determinar qual é o limite máximo que o material vegetal em estudo suporta, bem como avaliar aquelas doses que não induzem perdas do poder germinativo das sementes. Entretanto, o teor de umidade das sementes, no momento da irradiação é um fator importante a ser considerado.

Tabela 1. Percentagem de emergência aos cinco e 14 dias após semeadura (DAS) e índice de velocidade de emergência (IVE) em plântulas de duas cultivares de arroz, submetidas a diferentes doses de radiação gama Co<sup>60</sup>. \*Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Dose (Gy)	% Emergência				IVE	
	BRS Querência		BRS Fronteira		BRS Querência	BRS Fronteira
	5 DAS	14 DAS	5 DAS	14 DAS		
0	17,6 b*	87,8 ab	22,0 a	78,0 b	16,2 a	16,7 a
200	2,4 c	90,9 a	3,0 b	79,0 b	12,8 b	13,5 b
250	25,7 a	84,7 b	5,9 b	84,7 a	18,3 a	14,0 b
300	0,0 c	74,0 c	1,9 b	73,0 c	9,2 c	10,5 c
350	0,0 c	77,0 c	4,3 b	74,2 c	9,6 c	12,4 bc

Quanto ao índice de velocidade de emergência (IVE), obtido pela contagem diária do número de plântulas emergidas até a estabilização do estande, foi observado efeito para as doses de radiação semelhante à emergência (Tabela 1). Para a cv. BRS Querência, as sementes irradiadas com 250 Gy não diferiram no IVE do tratamento controle, para as demais doses houve redução, sendo os menores índices observados nos tratamentos com 300 e 350 Gy. Já para a cv. BRS Fronteira, todos os tratamentos em que as sementes foram irradiadas expressaram significativa redução no IVE em comparação ao controle não irradiado, sendo essa redução mais intensa com o aumento das doses de radiação. Em arroz, o percentual de germinação e a rápida emergência das plântulas no campo (IVE) constituem-se nos dois atributos principais que caracterizam o vigor das sementes, sendo particularmente importante durante as fases iniciais de desenvolvimento, onde a competição com plantas daninhas é muito severa até o estabelecimento da cultura (Malone, 2007).

Os parâmetros de crescimento avaliados aos 14 DAS mostraram que a altura das plântulas não diferiu significativa entre as cultivares em estudo, porém, ambas apresentaram redução a partir da dose de radiação de 200 Gy (Figura 1A). Estes resultados confirmam estudos realizados por Cheema & Atta (2003), Fu et al. (2008) e Tabasum et al. (2011), que verificaram redução na altura de plântulas de arroz a partir de doses iguais ou superiores a 200 Gy. A altura da planta é uma característica fundamental do ponto de vista produtivo. No arroz, elevados rendimentos são normalmente obtidos por plantas de menor porte, as quais, geralmente possuem colmos fortes e baixos e, por isso, toleram níveis mais elevados de nitrogênio sem acamarem. Entre as diversas cultivares de arroz com diferentes alturas, as do tipo semi-anão apresentam os maiores rendimentos, porém redução severa na altura tende a diminuir a produção e impede o desenvolvimento durante os estágios iniciais de crescimento (Domingo et al., 2007). A altura das plantas na geração M1 pode ser devido à inibição da síntese de DNA ou outros danos fisiológicos após os tratamentos mutagênicos (Tabasum et al., 2011). Quanto ao número médio de folhas por plântula, na cv. BRS Querência se manteve praticamente constante nos diferentes tratamentos, contrastando da cv. BRS Fronteira cujo aumento de folhas foi linear de acordo com as doses de radiação (Figura 1B). Shereen et al. (2009) analisando a área foliar em cultivares de arroz também observaram respostas contrastantes, onde, a cv. Sarshar apresentou aumento até a maior dose de radiação avaliada (250 Gy), e as cv. Shua-92 e IR-8 reduziram a área foliar nas maiores doses. Estudos realizados têm demonstrado que o efeito da radiação depende do estágio de desenvolvimento das plantas e das variáveis analisadas, ocorrendo inclusive recuperação de alguns parâmetros que inicialmente apresentavam redução. Isto foi visualizado por Hung & Johnson (2008) que trabalhando com *Wasabia japonica in vitro* e *ex vitro* constataram que após três meses em cultura, brotos irradiados com dose de 40 Gy apresentaram redução na

massa fresca, número médio e altura das brotações, ao serem comparados com o tratamento controle, não irradiado. Porém, 18 meses após o transplante para casa de vegetação, as plantas apresentaram no mesmo tratamento (40 Gy), incremento de 20% na sobrevivência e 32% na massa fresca dos rizomas.

O comprimento das raízes da cv. BRS Querência, embora tenha sido superior ao controle no tratamento com 250 Gy, apresentou tendência a redução para as maiores doses de radiação (Figura 1C). Esse máximo comprimento radicular na dose de 250 Gy pode ser reflexo da maior percentagem de emergência das plântulas aos cinco DAS e do IVE observados para esta cultivar (Tabela 1). Moradi et al. (2009) também avaliando a radiação gama em arroz observaram máximo comprimento radicular com 200 Gy e mínimo com 300 Gy, em comparação ao controle. Na cv. BRS Fronteira não houve variação expressiva para o comprimento médio das raízes. Comportamento distinto entre cultivares de arroz irradiadas também foram observados por Tabasum et al. (2011), embora, pelos dados médios de comprimento, as cultivares avaliadas apresentaram redução significativa com doses de radiação superiores a 150 Gy. Resultados semelhantes foram obtidos por Cheema & Atta (2003), com redução no comprimento radicular já em doses de 150 Gy.

Para a variável massa seca da parte aérea, a cv. BRS Querência apresentou tendência de redução com o aumento das doses de radiação (Figura 1D), estando em acordo com o resultados observados na altura de plântulas desta cultivar (Figura 1A), embora seu número de folhas não tenha variado expressivamente (Figura 1B). De forma distinta e em conformidade ao número de folhas, a cv. BRS Fronteira apresentou aumento na massa seca da parte aérea para os tratamentos com radiação, porém, tendendo a se igualar ao controle na dose de 350 Gy (Figura 1D). Em relação a massa seca das raízes o comportamento foi semelhante ao observado para a parte aérea, destacando a cv. BRS Fronteira que, para esta variável, manteve incremento expressivo na massa seca das raízes para as doses iguais ou superiores a 250 Gy (Figura 1E). Estes resultados mostram um contraste entre as duas cultivares, porém, sugerem uma igualdade de resposta em doses acima de 350 Gy, não testadas neste trabalho. Esta tendência foi confirmada por Tabasum et al. (2011), em que a média de massa fresca da parte aérea e das raízes de três cultivares de arroz irradiadas com 350 Gy, também não diferiu do tratamento controle, porém com dose de 400 Gy houve significativa redução.

Em consequência dos dados expostos e analisando a relação entre a massa seca da parte aérea e sistema radicular (Figura 1F), os resultados mostram que os diferentes tratamentos de radiação apresentaram efeito semelhante sobre a produção de massa da parte aérea e raízes para a cv. BRS Querência. Por outro lado, na cv. BRS Fronteira houve redução na relação parte aérea/raiz, caracterizando incremento em menor intensidade de massa seca da parte aérea em comparação as raízes com o aumento das doses de radiação.



observado que as sementes irradiadas ativaram o mecanismo de defesa antioxidante em ambas as cultivares de arroz, porém, em intensidades distintas. Ainda nas sementes, a atividade das enzimas antioxidantes apresentou pouca variação entre os tratamentos, sendo observada redução significativa somente na SOD e APX na dose de 300 Gy (Figuras 2A e G), não havendo diferença na atividade da CAT (Figura 2D). Por outro lado, nas plântulas aos sete dias, houve aumento significativo na atividade da SOD, sendo observado o maior incremento na cv. BRS Querência no tratamento com 300 Gy, aproximadamente 49% e para a

BRS Fronteira, no tratamento com 350 Gy, aproximadamente 63%, em comparação ao tratamento controle (Figura 2B). Neste mesmo período, a atividade da CAT apresentou queda significativa em sua atividade na cv. BRS Fronteira nas doses de 250 e 300 Gy, não variando na cv. BRS Querência (Figura 2E). Com a mesma tendência, porém em maior intensidade a observada na SOD, a atividade da APX expressou aumento significativo nas plântulas submetidas a radiação, aproximadamente 43% na cv. BRS Querência e 165% na cv. BRS Fronteira, entre o controle e a dose de 350 Gy de radiação (Figura 2H).

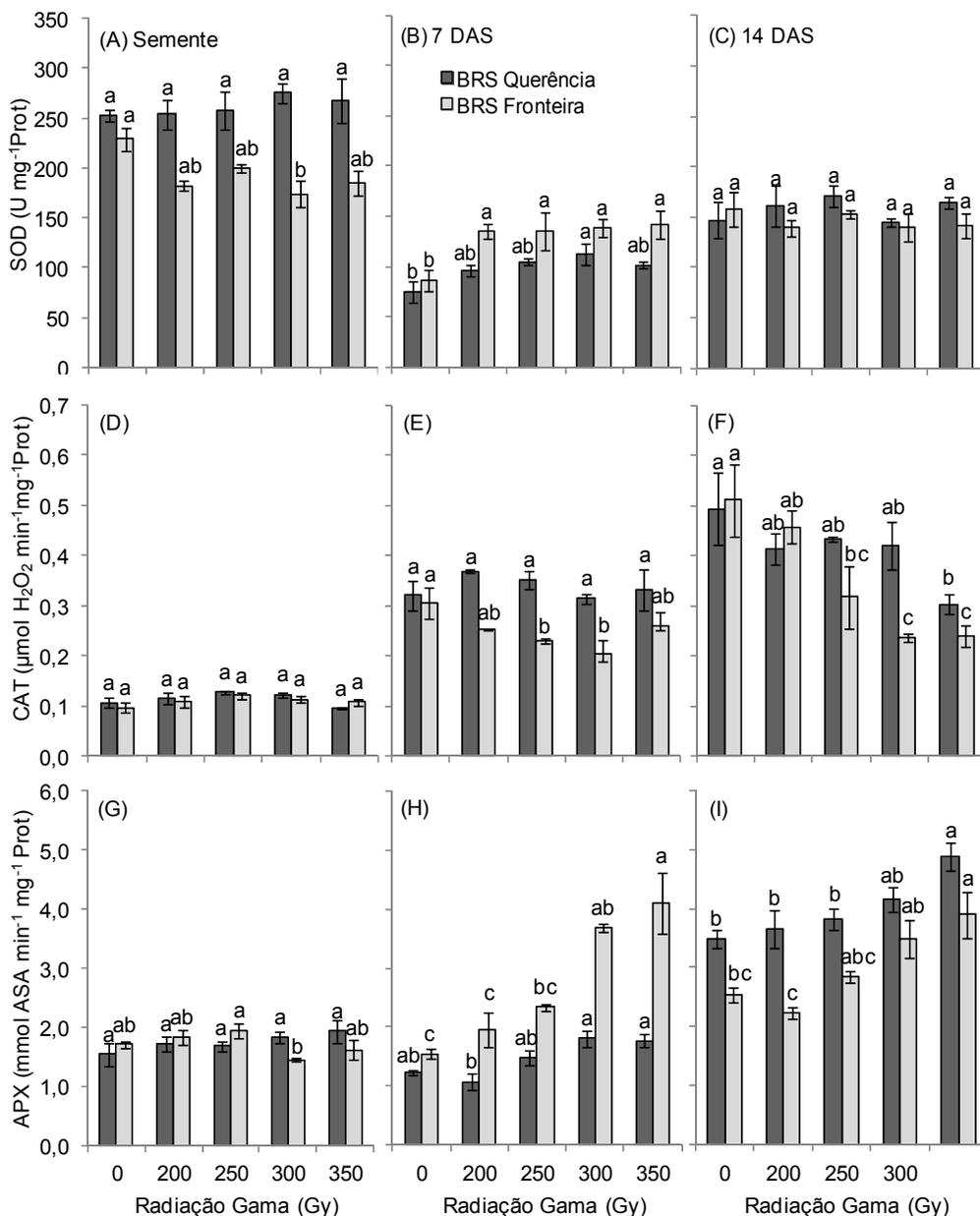


Figura 2. Atividade das enzimas Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Ascorbato Peroxidase (APX) avaliada em sementes e plântulas aos sete e 14 dias após a semeadura das cultivares de arroz BRS Querência (■) e BRS Fronteira (□) submetidas a diferentes doses de radiação gama. Médias seguidas pela mesma letra, comparando as diferentes doses em cada cultivar, não diferem pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Aos 14 DAS a atividade da SOD foi semelhante para as duas cultivares de arroz, e não variou entre os tratamentos (Figura 2C), o que pode ser justificado pelo fino controle do radical  $O_2^{\cdot -}$  produzido inicialmente pela condição de estresse aos sete DAS, não intensificando a atividade da SOD aos 14 DAS. Porém, para a CAT, novamente foi observada significativa queda em sua atividade com o aumento das doses de radiação e, neste período, para as duas cultivares (Figura 2F). A redução observada na atividade da CAT pode ser justificada pelo aumento significativo na atividade da APX para o mesmo período, assim como observado aos sete DAS, uma vez que ambas tem afinidade pelo mesmo substrato ( $H_2O_2$ ). Assim, o maior incremento foi observado nas plântulas irradiadas com 350 Gy, aproximadamente 39% para a cv. BRS Querência e 54% para a BRS Fronteira quando comparado aos valores observados nas plântulas controle (Figura 2I). Respostas similares foram observadas em estudo anterior realizado por Silva et al. (2011) com sementes de arroz das mesmas cultivares, porém, com 25% de umidade. Neste trabalho, os autores observaram que a radiação gama pouco afetou a atividade da enzima SOD quando também avaliada nas sementes. Entretanto, em plântulas aos 10 DAS, houve incremento em sua atividade a partir da dose de 100 Gy. Os mesmos autores ainda observaram que nas sementes, houve aumento na atividade da APX e CAT para a cv. BRS Fronteira em decorrência da radiação gama e nas plântulas (10 DAS) foi observado aumento somente na atividade da APX, porém para ambas as cultivares de arroz. Aumento na atividade das enzimas antioxidantes em função da radiação gama também foi observado por Lopes et al. (2010) em plântulas de mamona irradiadas com doses de até 200 Gy. A SOD é a primeira enzima a atuar no sistema de defesa antioxidante, realizando a dismutação do radical  $O_2^{\cdot -}$  a  $H_2O_2$ . Desta forma, o aumento em sua atividade, observado aos sete DAS, caracteriza um modo de sinalização do processo de estresse oxidativo, indicando que a exposição à radiação gama está gerando radicais  $O_2^{\cdot -}$  que, para a sua eliminação eficiente, exige um aumento na atividade da SOD, através de sua maior síntese nas células (Simonovicová et al., 2004). Contudo, o  $H_2O_2$  é um subproduto tóxico do metabolismo oxidativo e deve ser detoxificado pela CAT e ou peroxidases. Dentre as peroxidases, além da APX, a guaiacol peroxidase (GPX), enzima não estudada no presente trabalho, também tem a capacidade de detoxificar o  $H_2O_2$  e, segundo trabalho realizado por Amako et al. (1994), assim como a APX, pode utilizar o ácido ascórbico como doador de elétrons, contribuindo na eliminação de parte do  $H_2O_2$  produzido nos diferentes órgãos das plantas. Quanto à diferença observada entre a atividade da CAT e APX, as quais catalisam a conversão do  $H_2O_2$  a água e  $O_2$  (Gratão et al., 2005), pode ser justificada pela sua afinidade ao substrato, onde a APX tem maior afinidade pelo  $H_2O_2$  quando comparada a CAT (Graham & Patterson, 1982). Este comportamento justifica a redução na atividade da CAT, uma vez que a APX atuou de forma mais eficiente na remoção do  $H_2O_2$ , tanto aos sete, quanto aos 14 DAS. Estes resultados, em conformidade ao crescimento das plântulas, demonstram a existência de variabilidade entre as cultivares de arroz analisadas, sendo a melhor resposta obtida pela cv. BRS Fronteira.

## CONCLUSÕES

A emergência das plântulas das cultivares de arroz BRS Querência e BRS Fronteira é reduzida significativamente em doses acima de 250 Gy de radiação gama, porém, não afeta a produção total de biomassa, que na cv BRS Fronteira foi estimulada pelo incremento das doses de radiação. Embora ocasione estresse oxidativo, a radiação gama tem seus efeitos minimizados pela maior atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e ascorbate peroxidase, cuja análise conjunta dos parâmetros avaliados caracteriza melhor desempenho frente ao estresse imposto para a cv BRS Fronteira.

## REFERÊNCIAS

- Amako, K., G. Chen & K. Asada.** 1994. Separate assay specific for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants. *Plant and Cell Physiology* 35: 497-504.
- Azevedo, R.A., R.M. Alas, R.J. Smith & P.J. Lea.** 1998. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. *Physiologia Plantarum* 104: 280-292.
- Barros, A.C. & V. Arthur.** 2005. Determinação experimental da dose de redução do crescimento (GR50) e da dose letal (LD50) de soja irradiada por raios gama. *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*, 72: 249-253.
- Bibi, S., I.A. Khan, H.R. Bughio, I.A. Odhano, M.A. Asad & A. Khatri.** 2009. Genetic differentiation of rice mutants based on morphological traits and molecular marker (RAPD). *Pakistan Journal of Botany* 41: 737-743.
- Cheema, A.A. & B.M. Atta.** 2003. Radiosensitivity studies in basmati rice. *Pakistan Journal of Botany* 35: 197-207.
- Domingo, C., F. Andres & M. Talon.** (2007). Rice cv. Bahia mutagenized population: A new resource for rice breeding in the Mediterranean basin. *Spanish Journal of Agricultural Research* 5: 341-347.
- Fagundes, P.R.R. & A. Andres.** 2008. Comportamento de Linhagens Clearfield da Embrapa na Região Litoral Sul do Rio Grande do Sul – Safra 2006/07. Pelotas: Embrapa Clima Temperado. Comunicado Técnico N° 201. 4pp.
- Foyer, C.H. & G. Noctor.** 2005. Oxidant and antioxidant signalling in plants: A re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. *Plant Cell & Environment* 28: 1056-1071.
- Fu, H.W., Y.F. Li & Q.Y. Shu.** 2008. A revisit of mutation induction by gamma rays in rice (*Oryza sativa* L.): implications of microsatellite markers for quality control. *Molecular Breeding* 22: 281-288.
- Giannopolitis, C.N. & S.K. Ries.** 1977. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiology, Waterbury* 59: 309-314.
- Graham, D. & B.D. Patterson.** 1982. Responses of plants to low non-freezing temperatures: proteins, metabolism and acclimation. *Annual Review of Plant Physiology* 33: 347-372.
- Gratão, P.L., A. Polle, P.J. Lea & R.A. Azevedo.** 2005. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Functional Plant Biology* 32: 481-494.

- Hung, D.C. & K. Johnson.** 2008. Effects of ionizing radiation on the growth and allyl isothiocyanate accumulation of *Wasabia japonica* *in vitro* and *ex vitro*. In *In Vitro Cellular Developmental Biology-Plant* 44: 51-58.
- Lopes, A.M., S. Deuner, S.D. dos A. Silva & V.L. Bobrowski.** 2010. Atividade das enzimas antioxidantes em plântulas de mamona (*Ricinus communis* L.) submetidas à radiação gama cobalto-60. IV Congresso Brasileiro de Mamona e I Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas, João Pessoa-PB.
- Malone, G.** 2007. Relações bioquímicas e moleculares da germinação e emergência em arroz. Dr. Sc. Tese. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil. 72pp.
- Mikaelsen, K.** 1971. Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays, fast neutrons and ethyl methane sulphonate in rice. In: *Rice breeding with induced mutations III*, IAEA, 1969, New Delhi Proceedings... Vienna: FAO/IAEA Division, pp.91-96.
- Mittler, R.** 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-410.
- Moller, I.M., P.E. Jensen & A. Hansson.** 2007. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology* 58: 459-481.
- Moradi, M., A.A. Dehpour & R. Bishekolai.** 2009. Effect of gamma radiation on germination and embryogenic callus in rice (*Oryza sativa*) (IAEC Ref. 232). 10<sup>th</sup> International agricultural engineering conference by Asian association for agricultural engineering.
- Nakano, Y. & K. Asada.** 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology* 22: 867-880.
- Nichterlain, K., H. Bohlman, S. Niclen & M. Maluszynski.** 2000. Achievements and trends of using induced mutations in crop improvement. In: *DAEBRNS Symposium on the use of Nuclear and Molecular Techniques in Crop Improvement*. Mumbai, pp.27-35.
- Popinigis, F.** 1977. *Fisiologia da semente*. Brasília: AGIPLAN, 289 pp.
- Rodrigues, L.R.F. & A. Ando,** 2002. Caracterização e avaliação de três grupos de arroz-de-sequeiro de diferentes procedências por meio da sensibilidade à radiação gama. *Bragantia* 61: 17-23.
- Shereen, A., R. Ansari, S. Mumtaz, H.R. Bughio, S.M. Mujtaba, M.U. Shirazi & M.A. Khan.** 2009. Impact of gamma irradiation induced changes on growth and physiological responses of rice under saline conditions. *Pakistan Journal of Botany* 41: 2487-2495.
- Silva, A.S. da, R. Danielowski, E.J.B. Braga, S. Deuner, A.M. de Magalhães Junior & J.A. Peters.** 2011. Development of rice seedlings grown from pre-hydrated seeds and irradiated with gamma rays. *Ciência e Agrotecnologia* 35: 1093-1100.
- Simonovicová, M., J. Huttová, B. Siroká & L. Tamás.** 2004. Root growth inhibition by aluminum is probably caused by cell death due to peroxidase-mediated hydrogen peroxide production. *Protoplasma* 224: 91-98.
- Stadler, L.J.** 1928. Mutations in barley induced by X-rays and radium. *Science* 68: 186-187.
- Tabasum, A., A.A. Cheema, A. Hameed, M. Rashid & M. Ashraf.** 2011. Radio sensitivity of rice genotypes to gamma radiations based on seedling traits and physiological indices. *Pakistan Journal of Botany* 43: 1211-1222.
- Zonta, E.P. & A.A. Machado.** 1984. *SANEST – Sistema de análise estatística para microcomputadores*. Pelotas.