

RADIOSENSIBILIDADE DE SEMENTES DE *PHASEOLUS VULGARIS*
SUBMETIDAS À RADIAÇÃO GAMA

THE RADIO-SENSITIVITY OF GAMMA-IRRADIATED
PHASEOLUS VULGARIS SEEDS

K.G. Hell (1) e Maria Angela V. da Silveira (2)

RESUMO

A radiosensibilidade de sementes de *Phaseolus vulgaris* cv bico-de-ouro, tratadas com radiação gama, foi medida tomando por base o efeito provocado por esta radiação sobre o crescimento das plantas derivadas destas sementes. Determinou-se o peso fresco e o peso seco da raiz, hipocótilo e plúmula, bem como o comprimento do hipocótilo. A radiosensibilidade foi expressa pela variação destes valores de crescimento em relação aos do controle não irradiado, considerado como 100%.

Nas fases iniciais do crescimento foram observados valores diferentes na expressão da radiosensibilidade, conforme o órgão e o parâmetro analisado. Nos estágios finais, a expressão da radiosensibilidade passou a apresentar valores relativos muito semelhantes, independentes do órgão ou do tipo de medida efetuada. As medidas de peso fresco apresentaram valores mais variáveis, de um modo geral, maiores que as de peso seco. Plantas desenvolvidas no escuro mostraram maior radiosensibilidade que plantas desenvolvidas na luz. Efeitos de reversão na inibição do crescimento foram detectados após 40 e 64 h de crescimento, em material tratado com 80 e 120 kr.

SUMMARY

The radio-sensitivity of gamma-irradiated seeds of *Phaseolus vulgaris* cv bico-de-ouro was measured by the effects of this radiation on the plantlets grown from the irradiated seeds. The fresh and dry weight of the root, hypocotyle and plumule was measured as well as the length of the hypocotyle. The radio-sensitivity was calculated as percent of the control values (considered as 100%).

In the early stages of growth, the plantlets showed different values of radio-sensitivity according to the organ and to the kind of measurement made. Later radio-sensitivity became uniform whatever the organ of measurement. Measurement of fresh weight showed higher radio-sensitives than dry weight. The same occurs in dark-grown plants and in light-grown plants, the former being more radio-sensitive. Reversals in the growth inhibitions were detected after 40 and 64 h of growth in plants grown from seeds irradiated with 80 and 120 kr.

(1) Dep. de Botânica – Inst. Biociências, Univ. de São Paulo. C P: 11461, 05421 - São Paulo.

(2) Pós-graduanda, Dep. de Botânica.

INTRODUÇÃO

A radiosensibilidade de sementes submetidas às radiações ionizantes é medida pelo efeito destas radiações sobre as plântulas que se formam a partir das sementes irradiadas. Variações em comprimento (altura) da plântula (CONGER, 1975; HABER e LUIPPOLD, 1960; SCHWARTZ e BAY, 1956; SICARD e SCHWARTZ, 1959), do hipocótilo, epicótilo e raiz (QUASTLER e BAER, 1948, 1949, 1950; SANTOS, 1965), bem como variações em peso fresco e seco destes órgãos (CHERRY e Col., 1961; CONSTANTIN e LOVE, 1967), tem sido usadas neste sentido. A falta de um critério único para a determinação da expressão da radiosensibilidade dificulta a comparação dos resultados apresentados pelos diferentes autores.

No decorrer de uma pesquisa sobre a modulação dos efeitos da radiação gama na inibição do crescimento de plântulas de feijão (*Phaseolus vulgaris* cv bico-de-ouro) derivadas de sementes irradiadas, tornou-se necessário investigar, primeiramente, a variação encontrada entre as diferentes medidas de radiosensibilidade.

Este trabalho apresenta os resultados de um estudo comparativo dos efeitos da radiação gama, medidos sob a forma de variações no peso fresco, peso seco e comprimento do hipocótilo de plântulas de feijão, desenvolvidas em condições de luz controlada.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foram usadas sementes quiescentes de *Phaseolus vulgaris* L. cv bico-de-ouro, de uma mesma safra. As sementes por ocasião da irradiação apresentavam um teor de água de 13% em relação ao peso fresco.

Métodos

Empregou-se a radiação gama de uma fonte de ^{137}Cs . A taxa de dose foi a mesma em todos os tratamentos e igual a 1600 roetgens por hora. A irradiação processou-se ao ar, à temperatura ambiente da câmara de irradiação (20 - 25°C). As sementes foram irradiadas com doses de 1,2 2,5 5, 10, 20, 40, 80 e 120 kr.

Terminado o tratamento com radiação, as sementes foram transferidas para caixas de germinação. A germinação processou-se como descrito anteriormente (HELL e SILVEIRA, 1974), em condições ótimas para este material. As sementes germinadas (emergência de radícula), 40 horas após o início da germinação, foram plantadas em caixas de plástico contendo vermiculite embebida em água. O desenvolvimento das plantas, tanto no escuro como no claro, processou-se à temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$. A manipulação do material desenvolvido no escuro foi realizada sob luz verde. O desenvolvimento sob luz processou-se sob 2 lâmpadas fluorescentes de 40 W e uma incandescente de 300 W, com um total de 4500 lux. O fotoperíodo foi programado para ciclos de 8 horas de luz. As medidas foram efetuadas 40, 64, 88, 112, 136 e 160 horas após o início da germinação, para as plantas desenvolvidas no escuro e 160 horas para as plantas desenvolvidas no claro. Para cada observação foram retiradas das caixas, 10 plantas, segundo a ordem da tabela dos números ao caso, apresentada por DIXON e MASSEY Jr. (1969).

Para cada tratamento foi preparado um controle paralelo. Os tratamentos foram repetidos 3 vezes.

RESULTADOS

As plantas desenvolvidas no escuro foram cortadas, separando-se as raízes, hipocótilo e plúmula, determinando-se a seguir o peso fresco e o peso seco destes órgãos. Medidas de comprimento foram feitas apenas nos hipocótilos. Variações, com o tempo de cultura, na radiossensibilidade das plantas desenvolvidas no escuro, expressas em porcentagem em relação aos controles, estão apresentadas nas tabelas 1 (peso fresco) e 2 (peso seco). Cada valor corresponde à média de 30 plantas (3 repetições de 10 plantas). As variações na radiossensibilidade, expressas tanto em peso fresco como em peso seco mostraram uma mesma tendência, na raiz, hipocótilo e plúmula, bem como no total. De um modo geral, a radiossensibilidade expressa em peso fresco é mais acentuada que a expressa em peso seco, ou seja, a variação em relação ao controle é maior quando as medidas são feitas em peso fresco.

Quanto à dose de radiação, delineiam-se 3 faixas: as doses baixas (1,2 e 2,5 k) as doses medianas (5, 10 e 20 k) e as doses altas (40, 80 e 120 kr). As doses baixas caracterizam-se pelas pequenas alterações no crescimento. Nas doses medianas, principalmente a partir de 88 h de crescimento, nota-se uma proporcionalidade entre a dose de radiação e a inibição do crescimento. Nas doses altas de radiação, a 40 e 64 h de crescimento, observa-se uma reversão na inibição do crescimento. Nas horas seguintes, nota-se que o crescimento foi totalmente inibido, havendo apenas pequenos aumentos como o aumento da dose de radiação.

A radiossensibilidade, medida como variação no comprimento do hipocótilo, está apresentada na tabela 3, sob a forma de porcentagem em relação ao controle. Comparando-se as tendências na variação da radiossensibilidade do hipocótilo, expressa em peso e em comprimento, nota-se que a 40 h de crescimento o padrão é o mesmo, apresentando-se também uma reversão na inibição do crescimento. Da mesma forma, a partir de 112h, aparecem nitidamente as 3 faixas de efeito de dose. Contudo, a 64 e 88 h de crescimento, observam-se especialmente nas faixas de doses baixas e medianas, valores muito acima daqueles do controle, indicando que o material tratado apresentou medidas de comprimento maiores que as do controle. Estes incrementos no crescimento desapareceram nas horas mais avançadas do crescimento. Note-se ainda, que este efeito não apareceu nas medidas de radiossensibilidade expressas em peso, fresco ou seco.

A figura 1 mostra as variações na radiossensibilidade do hipocótilo, expressas em comprimento, de plantas desenvolvidas na luz e no escuro. A radiossensibilidade está apresentada como porcentagem do respectivo controle e representa as medidas de crescimento 160 h após o início da germinação. A figura 1 demonstra que as curvas de radiossensibilidade apresentam uma mesma tendência, tanto para o crescimento no escuro como no claro. As três faixas de efeito de dose aparecem de modo marcante na figura. Note-se a maior radiossensibilidade do material desenvolvido no escuro, ou seja, nestas condições o material foi mais fortemente inibido que no claro.

TABELA 1— Variações nas porcentagens em relação ao controle (100%), do peso fresco de *P. vulgaris* cv bico - de - ouro, tratado raios gama.

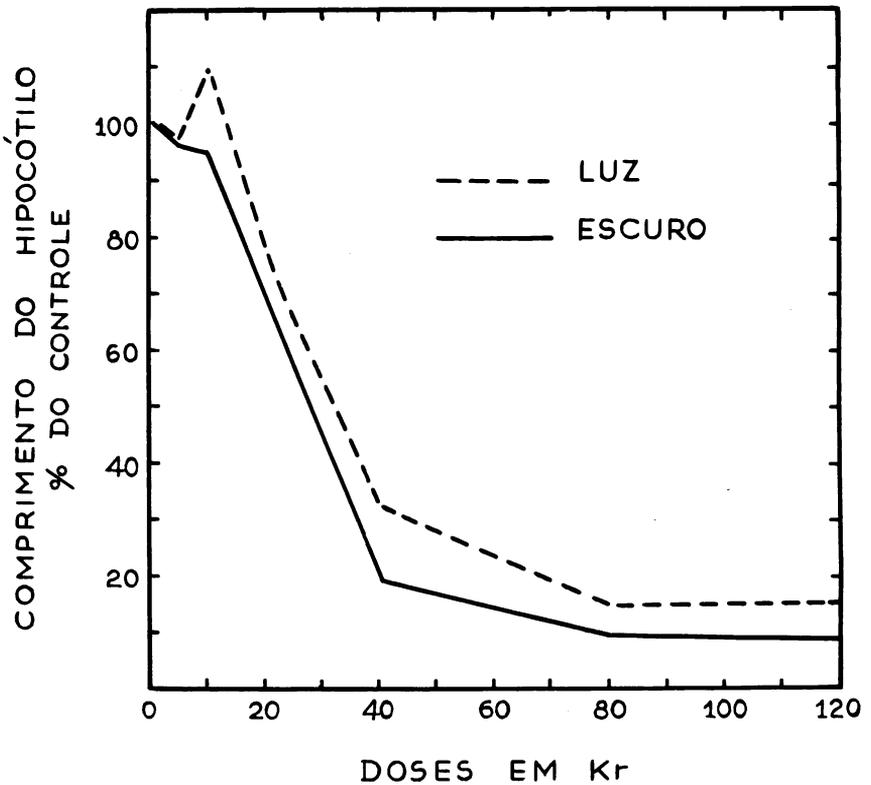
		DOSE EM k							
HORAS	ÓRGÃO	1,2	2,5	5	10	20	40	80	120
40	RAIZ	95	111	92	103	60	62	114	139
	HIPOCÓTILO	80	88	94	105	78	74	90	93
	PLÚMULA	115	127	94	101	72	71	95	77
	TOTAL	86	96	93	104	74	72	95	100
64	RAIZ	87	96	101	87	77	52	54	40
	HIPOCÓTILO	90	95	94	105	103	99	99	55
	PLÚMULA	86	87	88	105	70	56	38	33
	TOTAL	89	95	96	99	92	80	80	49
88	RAIZ	95	96	100	81	57	19	20	15
	HIPOCÓTILO	81	81	96	85	77	63	39	29
	PLÚMULA	95	92	109	87	51	24	20	17
	TOTAL	86	87	98	84	69	47	32	24
112	RAIZ	96	94	103	81	52	13	10	9
	HIPOCÓTILO	81	91	95	82	60	28	16	13
	PLUMULA	93	110	98	85	50	18	15	10
	TOTAL	85	92	97	82	58	24	15	12
136	RAIZ	102	106	105	95	58	12	9	8
	HIPOCÓTILO	96	101	102	91	60	21	11	8
	PLÚMULA	94	105	105	74	39	12	10	7
	TOTAL	97	102	103	91	58	19	11	8
160	RAIZ	103	106	105	92	71	13	9	6
	HIPOCÓTILO	97	92	90	97	79	24	9	8
	PLÚMULA	90	78	83	76	34	7	5	4
	TOTAL	97	93	92	95	74	21	9	7

TABELA 2 - Variações nas porcentagens em relação ao controle (100%), do peso seco de *P. vulgaris* cv. bico-de-ouro tratado com raios gama.

HORAS	ÓRGÃO	DOSE EM k							
		1,2	2,5	5	10	20	40	80	120
40	RAIZ	100	101	96	115	67	77	89	101
	HIPOCÓTILO	74	85	98	106	82	86	92	93
	PLÚMULA	119	126	108	109	73	75	95	94
	TOTAL	84	93	99	108	79	83	92	94
64	RAIZ	111	114	105	100	92	59	63	45
	HIPOCÓTILO	94	90	93	106	105	107	103	68
	PLÚMULA	94	90	80	96	70	56	49	36
	TOTAL	98	96	94	104	97	88	89	58
88	RAIZ	104	103	113	87	70	26	27	21
	HIPOCÓTILO	91	90	104	93	95	77	61	49
	PLÚMULA	89	87	105	83	57	26	22	18
	TOTAL	94	93	106	90	83	56	47	37
112	RAIZ	101	113	107	91	64	19	14	14
	HIPOCÓTILO	88	94	104	101	83	48	30	24
	PLÚMULA	90	97	95	91	47	16	13	10
	TOTAL	91	98	103	97	93	37	24	20
136	RAIZ	100	103	109	97	67	17	12	13
	HIPOCÓTILO	94	100	104	102	85	37	23	18
	PLÚMULA	91	99	101	80	43	11	9	7
	TOTAL	94	101	105	97	73	29	18	15
160	RAIZ	106	100	109	98	77	18	11	9
	HIPOCÓTILO	99	100	104	102	85	47	23	9
	PLÚMULA	94	82	87	81	48	8	6	5
	TOTAL	99	96	101	97	74	33	17	14

TABELA 3 – Variações nas porcentagens em relação ao controle (100%) do comprimento do hipocótilo de *P. vulgaris* cv. bico-de-ouro tratado com raios gama.

HORAS	DOSE EM k							
	1,2	2,5	5	10	20	40	80	120
40	90	89	101	100	82	82	87	87
64	116	123	134	155	139	130	125	102
88	118	120	134	125	108	78	60	53
112	96	107	119	105	64	32	22	20
136	111	111	120	97	59	20	13	11
160	101	98	99	99	71	17	10	8

Figura 1 – Efeito da radiação gama sobre o crescimento do hipocótilo de *Phaseolus vulgaris* cv bico-de-ouro, em plantas desenvolvidas na luz e no escuro.Figure 1 – Effect of gamma-radiation on the growth of the hypocotyl, in light and in dark-grown plants of *Phaseolus vulgaris* cv bico-de-ouro.

DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que a inibição do crescimento de plantas desenvolvidas a partir de sementes de *P. vulgaris* cv bico-de-ouro irradiadas com raios gama varia com a idade da planta. Em conseqüência, quando as medidas desta inibição do crescimento são tomadas como expressão da radiossensibilidade das sementes, esta passa a variar com o tempo de crescimento da planta. Além da variação com o tempo, foram constatadas diferenças notáveis entre a expressão da radiossensibilidade conforme o órgão analisado. Da mesma forma, nas primeiras horas do crescimento notam-se diferenças na expressão da radiossensibilidade do mesmo órgão conforme o tipo de medida adotado.

Estas diferenças na expressão da radiossensibilidade tendem a diminuir com o tempo, e as plantas mais velhas (112 e 160 h de desenvolvimento) passam a apresentar valores muito próximos, independentes do órgão ou do tipo de medida efetuada.

Entretanto, as diferenças constatadas nos estágios mais precoces do desenvolvimento, entre a expressão da radiossensibilidade medida como peso seco e peso fresco do material, bem como entre as medidas de plantas desenvolvidas no claro e no escuro, persistem, apesar de muito pequenas. A maior variabilidade (por exemplo na reversão da inibição do crescimento de raízes, 40 horas após o início do crescimento) e os valores mais altos de inibição do crescimento, quando esta é medida como peso fresco, sugerem o envolvimento do balanço hídrico da planta, nos danos induzidos pela radiação gama. Este efeito parece ser mais pronunciado nas fases iniciais do crescimento. A maior inibição do crescimento de material desenvolvido no escuro, em relação ao material desenvolvido na luz, possivelmente enquadra-se no fenômeno da restauração de injúrias induzidas pelas radiações ionizantes, por efeito da radiação visível (KLEIN e EDSALL, 1966; KLEIN e KLEIN, 1971).

QUASTLER e BAER (1948), trabalhando com *P. aureus* var. Chinese 793 - 437, descreveram a ocorrência de doses limiares para a constatação da inibição do crescimento por tratamentos com raios - X, de 24 K para raiz e de 20 K para hipocótilo. Em *P. vulgaris* cv bico-de-ouro não se constataram doses limiares, pois mesmo na faixa de doses baixas apareceram variações na radiossensibilidade, expressa em peso fresco e em comprimento do hipocótilo.

Reversões na inibição do crescimento de plântulas de monocotiledôneas, tratadas com altas doses e radiação ionizante, são conhecidas há bastante tempo (SCHWARTZ e BAY, 1956; SICARD e SCHWARTZ, 1959). As reversões detectados em *P. vulgaris* cv bico-de-ouro manifestaram-se em todos os órgãos analisados entre 40 e 64 h após o início da germinação. Estas reversões não puderam ser percebidas a partir de 88 h de crescimento.

Os valores mais altos de comprimento do hipocótilo, detectados nas primeiras horas após o início da germinação, podem ser considerados como estimulações do crescimento, produzidas por tratamentos com radiações ionizantes (SAX, 1963). Deve-se salientar, contudo, que esta estimulação teve caráter transitório e não foi constatada sob a forma de aumentos de peso do material. Esta dificuldade de constatar estimulações sob a forma de aumentos de peso já foi salientada por JOHNSON (1931).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Departamento de Biologia do Instituto de Biociências da U.S.P., pela utilização da fonte de ^{137}Cs (Doação da Fundação Rockefeller).

BIBLIOGRAFIA

- CHERRY, J.H., HAGEMAN, R.H., COLLINS, F.J. and FLESHER, R.D. 1961 – Effects of X-irradiation on corn seeds. *Plant Physiol.* 36, 566 - 572.
- CONGER, B.U. 1975 – Radioprotective effects of ascorbic acid in barley seeds. *Rad. Bot.* 15, 39 - 48.
- CONSTANTIN, M.J. and LOVE, J.E. 1967 – Seedling responses of *Vigna sinensis* (L) Savi to gamma radiation and neutron seed irradiation. *Rad. Bot.* 7, 497-506.
- DIXON, W.J. and MASSEY Jr., F.J. 1969 – Introduction to statistical analysis, 3rd ed. Mc-Graw-Hill. Tokyo, 638 p.
- HABER, A.H. and LUIPPOLD, H.J. 1960 – Effects of gibberellin on gamma-irradiated wheat. *Amer. J. Bot.* 47, 140 - 144.
- HELL, K.G. e SILVEIRA, M.A.V. 1974 – Embebição e germinação de sementes de *Phaseolus vulgaris* irradiadas com raios gama. *Bolm. Botânica, Univ. S. Paulo* 2, 43 - 52.
- JOHNSON, E.L. 1931 – On the alleged stimulating action of X-rays upon plants. *Amer. J. Bot.* 18, 603-614.
- KLEIN, R.M. and EDSALL, P.C. 1966 – Substitution of redox chemicals for radiation in phytochrome-mediated photomorphogenesis. *Plant Physiol.* 41, 949 - 952.
- KLEIN, R.M. and KLEIN, D.T. 1971 – Post-irradiation modulation of ionizing radiation damage to plants. *Bot. Rev.* 37, 397-436.
- QUASTLER, H. and BAER, M. 1948 – Inhibition of plant growth by irradiation. I. Discrete steps of inhibition and pattern of dose-response-relation. *J. Cell. and Comp. Physiol.* 31, 213-234.
- QUASTLER, H. and BAER, M. 1949 – Inhibition of plant growth by irradiation. II. Development and sensitivity. *J. Cell. and Comp. Physiol.* 33, 349 - 364.
- QUASTLER, H. and BAER, M. 1950. Inhibition of plant growth by irradiation. III. Successive radiation effects: homologous responses. *J. Cell. and Comp. Physiol.* 35, 75-94.
- SANTOS, I.S. 1965. Reduction of sensitivity to $\text{Co } ^{60}$ gamma rays in *Phaseolus aureus* Roxb. through pre - or post-irradiation heat treatment of the seed. *Rad. Bot. (Suppl.)* 5, 263-271.
- SAX, K. 1963 – The simulation of plant growth by ionizing radiation. *Rad. Bot.* 3, 179 - 186.
- SCHWARTZ, D. and BAY, C.E. 1956 – Further studies on the reversal in the seedling height dose curve at very high levels of ionizing radiations. *Amer. Nat.* 90, 323 - 327.
- SICARD, M.A. and SCHWARTZ, D. 1959 – The effect of high doses of radiation on seedling growth. *Rad. Res.* 10, 1 - 5.