

EFEITO DA RADIAÇÃO GAMA NA GERMINAÇÃO E NO ÍNDICE MITÓTICO EM SEMENTES DE TOMATE-CEREJA *Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme (Dunal) A. Gray.

Daiane Peixoto Vargas

Bióloga, Doutoranda em Fisiologia Vegetal, Laboratório de Cultura de Tecidos em Plantas, Departamento de Biologia- DBI, Universidade Federal de Lavras - UFLA- Cxa. Postal 37 - 37200000 - Lavras - MG - Bolsista CNPq. Autora para correspondência
E-mail: dvbio@hotmail.com

Geovana Garcia Terra

Bacharel em Química, Doutoranda em Química, Laboratório de Bioinorgânica e Cristalografia (LABINC), Departamento de Química/ Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) Bolsista CNPq
E-mail: geterra@yahoo.com.br

Sérgio Alessandro Machado Souza

Biólogo, Mestrando em Genética e Melhoramento, Setor de Citogenética Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense/ UENF -
E-mail: sergiobioufpel@yahoo.com.br

Vanessa Cristina Stein

Bióloga, Doutoranda em Fisiologia Vegetal, Laboratório de Cultura de Tecidos em Plantas, Departamento de Biologia- DBI, Universidade Federal de Lavras - UFLA
E-mail: vanessastein@ig.com.br

Vera Lúcia Bobrowski

Eng. Agra, Dra, Profra. Adjunta, Instituto de Biologia, Departamento de Zoologia e Genética da Universidade Federal de Pelotas E-mail: vera.bobrowski@ufpel.edu.br

RESUMO - O tomate-cereja é um dos tipos de tomate muito cultivado e consumido no Brasil. No melhoramento genético, o aumento de variabilidade por indução de mutações é uma das técnicas aplicadas na busca por características agronomicamente interessantes. Neste experimento objetivou-se avaliar os efeitos fisiológicos e citogenéticos de diferentes doses de radiação gama de Co-60 em sementes de tomate cereja. Para tanto, diferentes dosagens de radiação foram testadas (0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 0,8; 1,0 e 1,1 kGy) incubados em B.O.D as analisadas foram feitas conforme RAS (Regra de Análise de Sementes). Para determinação dos efeitos fisiológicos foram realizados os testes de germinação, comprimento da parte aérea, e plântulas normal e anormal e para determinação dos efeitos citogenéticos foi avaliado o índice mitótico de células meristemáticas radiculares de tomate cereja. As diferentes doses de radiação testadas não causaram efeitos deletérios ao poder germinativo das sementes de tomate nem induziram aparecimento de plântulas anormais de forma estatisticamente significativa ($\alpha = 0,05$). Nas doses (0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 0,8; 1,0 e 1,1 kGy) de radiação de gama não influenciam a germinação de sementes de tomate cereja e a formação de plântulas anormais. Na avaliação do índice de divisão celular as doses de 0,2 e 0,3 kGy induziram maior atividade mitótica enquanto que a dose de 1,1 kGy causou maior redução no índice mitótico entre as doses testadas.

PALAVRAS-CHAVE: índice mitótico, Co-60, *Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme (Dunal) A. Gray.).

EFFECT OF THE GAMMA RADIATION ON THE GERMINATION AND MITOTIC INDEX IN SEEDS *Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme (Dunal) A. Gray.

ABSTRACT - The cherry tomato is one of the types of tomato very cultivated and consumed in Brazil. In the improvement genetic the increase of the variability for induction of mutations is one of the techniques applied in the search by characteristic agronomic. In this experiment it was objectified to evaluate the physiologic effects and citogenetic of different radiation doses it loves of Co-60 in seeds of cherry tomato. For so much, was used different dosagens of the radiation (0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 0,8; 1,0 and 1,1 kGy) was installed in B.O.D. For determination of the

physiologic effects the germination tests, length of the aerial part, and normal and abnormal growth of the plântulas were accomplished and for determination of the effects citogenetics the index mitotic of cells meristemáticas root of cherry tomato was evaluated. Didn't the different tested radiation doses cause deleterious effects in the power germination of the tomato seeds, neither show induced of abnormal seedling in way significant statistical ($\alpha = 0,05$). In of gamma radiation (0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 0,8; 1,0 and 1.1 kGy) do not influence the abnormal germination of tomato seeds cherry and formation of seedlings. In the evaluation of the index of cellular division the 0,3 doses of 0,2 and kGy had induced greater mitotic activity while that the dose of 1,1 kGy caused greater reduction in the mitotic index between the tested radiation.

KEY WORDS: mitotic index, *Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme (Dunal) A. Gray, Co-60.

INTRODUÇÃO

O tomate-cereja (*Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme (Dunal) A. Gray) pertence a família com frutos pequenos, redondos, vermelhos quando maduros apresentam diâmetro em torno de 1,5cm (STERTZ et al., 2005). São plantas de crescimento indeterminado com número de frutos/penca variando de 15 a 50 e pesando entre 10 e 30 g (BARBOSA et al., 2002).

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 maior variabilidade genética (GAUL, 1961), principalmente se a variação genética da cultura for pequena (KUMAR, 1994).

Há diversas fontes de indução de mutação, porém a radiação gama é considerada como uma das principais (Pimentel, 1990). Através do uso de radiações ionizantes foram obtidos mutantes com características de maior produtividade, precocidade, menor porte, maior resistência à doenças e pragas em diferentes espécies, os quais são utilizados nos programas de melhoramento na obtenção de novas variedades (ESCURO et al., 1971; GANASHAN, 1971; HAQ et al., 1971; MIKAELSEN et al., 1971).

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, além de outros fatores (GAUL, 1970). Dentre estes fatores, destacam-se: condições de armazenamento, como temperatura e período após a irradiação (HEASLIP, 1959; Brock and Franklin, 1966); genótipo dos indivíduos (KILLION e CONSTANTIN, 1972; BAHL e GUPTA, 1982); a dosagem de radiação (SANTOS, 1993); a presença de substâncias químicas (KUMAR, 1991); a fase do ciclo celular (GUDKOV e GRODZINSKY, 1982), o grau de ploidia dos cromossomos (BROCK, 1980) e o conteúdo de DNA por genoma haplóide (PLEWA et al., 1983).

Com relação à radiosensibilidade das espécies, diversos autores relataram que as diferenças são governadas pelo número cromossômico. Segundo Sparrow and Sparrow (1965) uma das maneiras de se

medir a radiosensibilidade é pela determinação do volume cromossômico na interfase (o volume do núcleo na interfase, dividido pelo número de cromossomos) das células do meristema apical e ainda que as espécies arbóreas lenhosas são aproximadamente duas vezes mais sensíveis que as herbáceas. Porém, de acordo com Filho Marcos and Godoy (1974), a germinação, emergência e a sobrevivência das plântulas, o desenvolvimento e a produção final das plantas também são critérios comumente utilizados na avaliação da radiosensibilidade.

Devido à escassez de trabalhos envolvendo a utilização de radiação gama em tomate cereja, o presente estudo objetivou avaliar os efeitos fisiológicos e citogenéticos de diferentes doses de radiação gama do Co-60 em sementes desta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório Didático de Sementes e no Laboratório de Genética, do Departamento de Zoologia e Genética do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

Sementes de tomate-cereja (*Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme (Dunal) A. Gray) foram tratadas com radiações gama realizados em fonte de Co-60 "Eldorado 78" (Atomic Energy of Canada, Ltd.) no Centro de Oncologia, Departamento de Radioterapia, Faculdade de Medicina, UFPEL. As diferentes dosagens de radiação foram obtidas através da variação do tempo de exposição das sementes. As doses utilizadas foram: 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 0,8; 1,0 e 1,1 kGy. As sementes foram armazenadas por um período de 90 dias e então semeadas em papel tipo Germitest, umedecido com água em quantidade de duas vezes o peso do papel, e mantidas em câmara B.O.D. sob temperatura 20-30°C, com fotoperíodo de 8 h de luz.

Para determinação dos efeitos fisiológicos foram realizados os testes de germinação, comprimento da parte aérea, e formação de plântulas normais e anormais conforme descrito pelas Regras de Análises de Sementes (BRASIL, 1992).

Utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições de 100 sementes por

tratamento, foi realizada análise de variação e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan utilizando pacote estatístico SANEST (ZONTA e MACHADO, 1986).

Para determinação dos efeitos citogenéticos sobre as células meristemáticas foram coletadas pontas de raízes jovens com cerca de 1,5 cm, obtidas a partir das sementes irradiadas em diferentes doses. As raízes foram coletadas e fixadas em Carnoy I (3 álcool etílico: 1 ácido acético) a temperatura ambiente por no mínimo 2 horas e no máximo 24 horas, e posteriormente estocadas em álcool 70% e mantidas a 4°C até a análise.

Para a confecção das lâminas as raízes foram lavadas duas vezes com água destilada, hidrolisadas em HCl 5N por 20 minutos a temperatura ambiente. A coloração utilizada foiorceína acética 2% e para a

estimativa do percentual do índice mitótico utilizou-se a fórmula número total de células em divisão/ total de células avaliadas multiplicando por 100. Foram contadas 250 células por lâmina e 5 repetições por dose totalizando 1250 células para cada tratamento.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que diferentes doses de radiação testadas não causaram efeitos ao poder germinativo das sementes de tomate nos diferentes tratamentos e no controle (Tabela 1). Segundo, Ferreira e colaboradores, (1980), o fenômeno de dormência das sementes de arroz pode ser superado ou ainda a ocorrência de aumento do percentual de germinação.

TABELA 1. Avaliação do percentual de germinação e número de plântulas anormais formadas a partir de sementes de tomate irradiadas com diferentes dosagens de radiação (Co-60).

Tratamentos (KGy)	Percentual de germinação (%)	Número de plântulas anormais
0,0	89,34 a	0,20 a
0,1	87,89 a	1,95 a
0,2	83,36 a	4,70 a
0,3	89,42 a	0,61 a
0,5	82,86 a	1,96 a
0,8	84,07 a	1,47 a
1,0	84,62 a	0,70 a
1,1	87,37 a	1,77 a
CV (%)	6,08	42,31

*Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan a 5%.

O percentual de germinação parece um parâmetro dependente de genótipo, pois na literatura são descritos diferentes efeitos. Pesquisas relatam um aumento do poder germinativo para varias espécies com baixas doses de radiação diferentemente do observado neste trabalho. Huachaca (2002) observou que somente na dose mais alta (4kGy) houve inibição na germinação nas sementes de tomate.

Filho Marcos et al. (1972) observaram que as doses crescentes de radiação gama aplicadas a sementes de milho não provocaram efeitos de estímulo ou inibição à germinação em relação à testemunha. No entanto, a germinação pode ser altamente influenciada negativamente com o aumento nas dosagens de radiação gama.

O tempo de armazenamento das sementes irradiadas antes da germinação pode ter colaborado para este efeito observado, pois de acordo com Rodrigues e Ando (2003), as peroxidases, as enzimas reparadoras e as catalases têm um papel fundamental na recuperação das células e na decomposição de produtos da radiação, o que pode ter ocorrido durante este intervalo de tempo. Segundo Wollf e Sicard (1961) o efeito no desenvolvimento das plantas se deve a ação direta da

radiação gama sobre a germinação, e a formação de radicais livres de longa duração.

Observou-se que formação de plântulas anormais, em tomate-cereja, não diferiu estatisticamente entre os tratamentos, quando comparados com o grupo controle (Tab.1). para análise da formação de parte aérea observou-se (Fig.1) que o efeito das doses 0,1; 0,5; 0,8 e 1,0 kGy não diferiram estatisticamente do controle enquanto que as doses de 0,2; 0,3 e 1,1 kGy causaram uma diminuição de crescimento na parte aérea significativa em relação ao controle (Fig. 2). A variação no efeito das doses de radiação sobre crescimento de parte área também foi observado por Ferreira et al. (1980) em sementes de araucária utilizando raios-X. Rodrigues e Ando (2003) observaram efeito similar de variação não linear entre o efeito das doses de radiação sobre a variável altura de plantas de arroz tipo japônica. Barros e Arthur (2005), utilizando dose de 0,10 kGy, 0,20 kGy, 0,30 kGy, 0,40 kGy e 0,50 kGy em sementes de soja, observaram uma redução drástica da altura media das plantas com o aumento da dose. O crescimento de brotos e de raízes dos feijões irradiados foi claramente inibido em doses superiores a 1,0 kGy (FANARO, 2004).

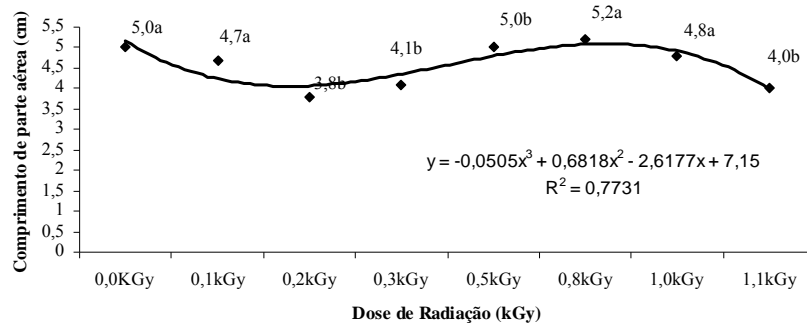


FIGURA. 1 Efeito de diferentes doses de radiação (Co-60) sobre a parte aérea de plântulas de tomate-cereja. Letras distintas entre as doses indicam diferença significativa a 5%. CV = 11,85%. UFPel, 2007.

Nas doses de 0,2 e 0,3 kGy causaram incremento no índice mitótico das células, sendo este aumento estatisticamente significativo quando comparado ao controle e as demais doses de radiação, indicando que possivelmente dosagens mais baixas estimulem o processo de divisão celular; porém, isto não indicou um efeito direto na germinação. Na dose de 1,1 kGy testada

houve uma diminuição significativa quando comparada as demais (Fig. 2). Carvalho (2005) observou aumento de variabilidade utilizando radiação gama em variedades de aveia, afirmando que este método pode contribuir significativamente para obtenção de incrementos na variabilidade pelo aumento no índice mitótico observado o que provocaria mudanças genotípicas.

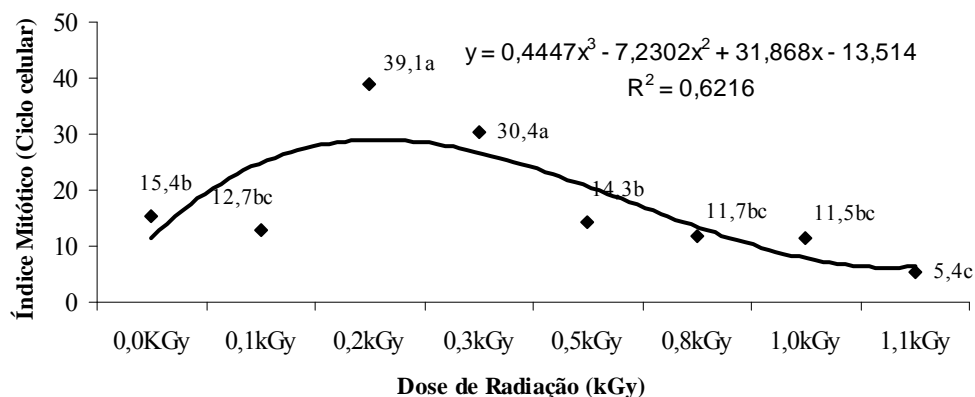


FIGURA 2. Índice mitótico em células meristemáticas de tomate cereja expostas as diferentes doses de radiação gama (Co-60). Letras distintas entre colunas indicam diferença significativa a 5%. (CV 25,68%).

Segundo, Gazzaneo et al. (2007), a dose ideal para promover mutações sem que haja grande perda no rendimento do indivíduo irradiado é tecido-específica. Portanto, diferentes tecidos respondem de forma competente, sendo indispensável necessariamente à realização de teste de radiosensibilidade para determinar a dose ideal. Por isso, o índice mitótico é um dos parâmetros que pode prever há análise da radiosensibilidade em plantas, sendo possível à associação direta à sobrevivência da planta.

CONCLUSÃO

Na espécie *Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme as doses de radiação de gama testadas não

influenciaram a germinação de sementes, o comprimento da parte aérea e a formação de plântulas anormais. Contudo, células meristemáticas das raízes apresentaram-se radiosensíveis quando as sementes foram submetidas às doses de radiação gama de 0,2 e 0,3 kGy.

IN MEMORIAM

A Ari Silva dos Santos – Ex - Professor do Instituto de Química e Geociências da Universidade Federal de Pelotas/UFPel – RS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- BAHL, J.R. ; GUPTA, P.K. Chlorophyll mutations in mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 63, p.23-26, 1982.
- BARBOSA, R.M.; LIMA, M.C. B. DE; SILVA, E. C. da Uma experiência com cultivo hidropônico do tomateiro do grupo cereja em Maceió, AL. **Horticultura brasileira**, v. 20, n.2, julho, suplemento 2, 2002.
- BARROS, A.C. DE & ARTHUR, V. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.72, n.2, p.249-253, abr./jun., 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa agropecuária Divisão de Laboratório Vegetal. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, 1993, 365 p.
- BROCK, R.D. Mutagenesis and crop improvement. In: CARLSON, P. S. **Biology of crop productivity**, New York, Academic Press, 1980. p.383-409.
- BROCK, R.D.; FRANKLIN, I.R. The effect of desiccation, storage and radiation intensity on mutation rate in tomato pollen. **Radiation Botany**, Great Britain, v. 6. p.171-179, 1966.
- CARVALHO, F. I. F. de C.; MEIRELLES, J. L. L.; OLIVEIRA, C.; SILVA, A. C. de, GONZALEZ, J. A. da. Comparação entre mutagênicos químico e físico em populações de aveia. **Ciência Rural**. Santa Maria v.35 no.1. jan./fev. 2005
- ESCURO, P.B. Inductions of mutations in rice: their nature and use for rice improvement. In: **Rice Breeding with Induced Mutations III**, IAEA, Vienna, v. 5, p. 18, 1971.
- FERREIRA, A. C.; NASCIMENTO, V. F. ; FERREIRA, M.; VENCOVSKY, R. Efeito de baixas doses de radiação gama na conservação do poder germinativo de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bert) O. Kuntze. **IPEF**, n. 21, p. 67-82, dez. 1980.
- FILHO MARCOS, J.; GODOY, O. P. Efeitos de irradiação de sementes sobre a produtividade do feijoeiro. **O Solo**, Piracicaba, S.P., v. 1, p. 18-22, 1974.
- FILHO MARCOS, J.; SANTOS, F. D. P.; BRAGANTINI, C. Radiossensibilidade em sementes de milho (*Zea mays* L.). **O Solo**, Piracicaba, S.P.,v. 2, p. 37-44, 1972.
- GANASHAN, P. Evolution of rice varieties by radiation-induced mutations in H4 and H8 rice varieties. In: **Rice Breeding with Induced Mutations III**, IAEA, Vienna, v.19, p. 28, 1971.
- GAUL, H. Mutagen effects observable in the first generation. In: **Manual Mutation Breeding**, IAEA. Vienna, v. 85, .1970 , p. 106.
- GAUL, H. Use of induced mutants in seed-propagated species. **Mutation and Plant Breeding**, Washington, NAS-NRC, 1961. p.206-251.
- GAZZANEO, L. R. S.; COLAÇO, W.; KIDO, E. A.; BENKO-ISENPPON, A. M.; HOULLOU-KIDO, L. M. Efeito da radiação gama sobre o desenvolvimento in vitro de *Vigna unguiculata*. **Rev. Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p.27-29, jul.2007.
- GUDKOV, I.N.; GRODZINSKY, D.M. Cell radiosensitivity variation in synchronously-dividing root meristems of *Pisum sativum* L. and *Zea mays* L. during the mitotic cycle. **Internacional Journal of Radiation Biology**, Bristol, v. 414):401-409, 1982.
- 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.
- HEASLIP, M.B. Effects of seed irradiation on germination and seedling growth of certain deciduous trees. **Ecology**, Durham, 40 (3):383-8, 1959.
- HUACHACA, N. S. M. Teste do cometa e teste de germinação na detecção do tratamento de alimentos com a radiação ionizante. São Paulo: 2002. 97p. [**Dissertação** (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares].
- KILLION, D.D. ; CONSTANTIN, M.J. Gamma irradiation of corn plants:effects of exposure, exposure rate, and developmental stage on survival, height, and

grain yield of two cultivars. **Radiation Botany**, Great Britain, v.12, p.159-164, 1972.

KUMAR, A. Somaclonal variation. In: Bradshaw, J. E., and G. R. Mackay, Potato Genetics, Wallingford, CAB International, 1994, 552p.

KUMAR, G. Modification of radiation induced genetic damage and impaired DNA synthesis by thiourea treatment in *Solanum incanum* L. **Cytologia**, Tokyo, v. 56, p. 117-123, 1991.

MIKAELSEN, K. Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays, fast neutrons and ethyl methane sulphonate in rice. In: Rice Breeding with Induced Mutations III, IAEA, Vienna, p. 91-96, 1971.

PIMENTEL, M.C.G. **Indução de aberrações cromossômicas estruturais em milho (*Zea mays* L.) por radiação gama.** . 86f. 1990. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa - UFV, Viçosa.

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, 1983.

RODRIGUES, L.R.F. ; ANDO, A. Uso da sensibilidade à radiação gama na discriminação de variedades de arroz-de-sequeiro dos grupos índica e japônica, **Bragantia**, Campinas, v.62, n.2, p.179-188, 2003.

SANTOS, M.V.F.D.L. **Resposta à radiação gama em sementes de milho (*Zea mays* L.) sob a influência de agentes físicos e químicos.** 131f. 1993.. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa- UFV, Viçosa.

SPARROW, R.C. ; SPARROW, A.H. Relative radiosensitivities of woody and herbaceous spermatophytes. **Science**, v.147, n. 3664, p. 1449 – 1451, 1965.

STERTZ, S. C.; ESPÍRITO SANTO, A.P. do; BONA, C., FREITAS, R. J. S. de, Comparative morphological analysis of cherry tomato fruits from three cropping

systems, **Science. Agricola** . (Piracicaba, Braz.), v.62, n.3, p.296-298, May/June 2005.

WOLFF, S. ; SICARD, A.M.. Post irradiation storage and the growth of barley seedlings. In: IAEA/F AO - **Effect of ionizing radiation on seeds**. Viena, 1961. p. 171-9.

ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A. Sistema de análise estatística para microcomputadores- SANEST. Pelotas, UFPel, Instituto de Física e Matemática, 1986. 150 p.