CENA

BC-020

EFEITOS DA INTERAÇÃO RADIAÇÃO GAMA x CISTEINA EM "SEEDLINGS" DE ERVILHA (*Pisum sativum* L.)

A. B. Gusman
O. J. Crocomo

12 de julho de 1 974

BOLETIM CIENTIFICO

CENA
BIBLIOTECA
N.o 3223

CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA
USP-CNEN
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"
PIRACICABA-SP
- BRASIL -

ÍNDICE

página

RESUMO 01

SUMMARY 02

1. INTRODUÇÃO 03

2. MATERIAIS E MÉTODOS 05

2.1. Materiais 05

2.1.1. Sementes 05

2.1.2. Reagentes 05

2.1.3. Aplicação da radiação 05

2.1.4. Instrumentos e aparelhos 05

2.2. Métodos 06

2.2.1. Porcentagem de germinação 06

2.2.2. Conteúdo de água nas sementes 06

2.2.3. Doses de radiação 06

2.2.4. Tratamentos 07

2.2.5. Exposição à radiação 09

2.2.6. Tratamento com cisteína 09

2.2.7. Semeadura 09

2.2.8. Coleta das sementes 09

2.2.9. Extrato enzimático 10

2.2.10. Determinação da atividade de peroxidase . . . 10

2.2.11. Medidas histológicas 11

3. RESULTADOS 13

3.1. Atividade de peroxidase 13

3.2. Medidas histológicas 14

4. DISCUSSÃO 19

5. CONCLUSÕES 21

6. AGRADECIMENTOS 22

7. BIBLIOGRAFIA 23

EFEITOS DA INTERAÇÃO RADIAÇÃO GAMA X CISTEINA EM "SEEDLINGS" DE ERVILHA (*Pisum sativum L.*)

A.B.Gusman - Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto.
O.J.Crocomo - Depto. de Química - ESALQ.

R E S U M O

O efeito biológico da combinação de radiação gama (doses de 5 a 35 krads) e cisteina, na concentração de 10^{-3}M, sobre a atividade de peroxidase, e alteração nos tecidos transversais do estelo de "seedlings" de *Pisum sativum L.*, constituiu o objetivo do presente trabalho. As observações foram feitas dois dias após a irradiação e embebição das sementes que receberam os seguintes tratamentos: R_o (controle); R_o + C (ausência de radiação e presença de cisteina); R_1 (dose de radiação: 5 krad); R_1 + C (combinação de radiação e cisteina); R_2 (dose de radiação: 35 krad); R_2 + C (combinação de radiação e cisteina).

As análises dos resultados revelou que tanto as doses de radiação gama como cisteina, aplicadas isoladamente, provocaram diminuição da atividade enzimática e aumento de tecidos do estelo medidos transversalmente. A dose 5 krad promoveu uma baixa atividade enzimática, sendo recuperada pela cisteina mais marcadamente que para o efeito da dose 35 krad. Em dosagem baixa (5 krad), o caule sofreu aumento em comprimento e em espessura, enquanto que a aplicação de dose de 35 krad resultou em plantas de caules curtos e mais espessos. Essas interações de peroxidase e cisteina em relação ao crescimento são discutidas ao nível de AIA.

Recebido para publicação 28 de março de 1 974.

EFFECTS OF GAMMA RADIATION X CYSTEINE INTERACTION IN PEA SEEDLINGS (*Pisum sativum* L.)

S U M M A R Y

The aim of this work was to study the combined biological effects of two doses of gamma radiation (5 and 35 krad) and 10^{-3}M cysteine concentration on peroxidase activity, and the morphology transverse sections of stem tissue of Pea seedlings (*Pisum sativum* L., var. Perfectah - IAC - 170). The measurements were made during 3 days at intervals of 12 hours after irradiation and soaking of the seeds. The seeds received the following treatments: R_o (control) R_o + C (without radiation and cysteine present); R_1 (radiation dose - 5 krad); R_1 + C (radiation and cysteine combined); R_2 (radiation dose - 35 krad); R_2 + C (radiation and cysteine combined).

The data suggest that the dose of 5 krad induced a dual effect on the peroxidase activity which decreased in the first 12 hours, increased between 24 and 36 hours and then decreased again between 48 and 72 hours, in relation to the control. On the other hand, the peroxidase activity decreased throughout the experiment, when a dose of 35 krad was applied. The combination of radiation and cysteine showed a statistically significant interaction. When combined, there was a tendency to diminish the effects of radiation and cysteine alone, as measured by the activity of peroxidase, and morphology in transverse sections. Cysteine alone was just as effective as the two irradiation doses. Cysteine induced an increase in the area of the stele, while in combination with radiation (RxC) brought about its reduction.

1. INTRODUÇÃO

Muitos trabalhos têm sido realizados usando-se enzimas em solução, principalmente com enzimas-SH, com a finalidade de se estudar os efeitos da ação indireta da radiação na sua atividade, e os mecanismos pelos quais os compostos sulfidrílicos podem protegê-las *(FORSSBERG et al., 1960 e GOUTIER & BACQ, 1963)*. Por outro lado, os protetores sulfidrílicos apresentam certa universalidade de ação, mostrando-se eficientes *in vitro* e *in vivo*, e não só em enzimas sulfidrílicas *(POLLARD et al., 1955; SULTON, 1956; GIROZA & NORMAN, 1957; ALEXANDER, 1962; NAGY et al., 1968; JUNG, 1967* cf. *SANNER & PIHL, 1969)*.

Considera-se que a maioria das alterações provocadas por radiação que levam a inativação como destruição de sitio ativo e/ou desnaturação de enzimas, estão associadas com mudanças na constante de Mickaelis e Menten *(SANNER & PIHL, 1969)*. Como consequência, se poderia ter efeitos indesejáveis em sistemas enzimáticos responsáveis pela coordenação do crescimento, como os ligados à oxiredução e inibição de hormônios. Os compostos sulfidrílicos podem atuar contra estes efeitos da radiação aos níveis físico-químico *(ELDJARN & PIHL, 1960)* e metabólico *(BACQ & ALEXANDER, 1964; NAGY et al., 1968)*.

Ao nível físico-químico pode-se ter: proteção, pela remoção de radicais através de ruptura de radicais livres; através de reparo de moléculas vitais ativadas; por reações de transferência de energia antes que radicais "target" se tornem estáveis; por combinação com substâncias sensíveis à radiação que contenham -SH ou -SS, formando dissulfetos mistos, os quais dão maior proteção à estrutura química da molécula do meio, diminuindo a tensão do oxigênio, provocando anoxia e reduzindo o dano celular.

Ao nível metabólico haveria alterações das proteínas e mito

condria, como consequência do efeito reparador por substâncias sulfidrílicas. Assim, os efeitos da radiação na ausência de um protetor poderiam resultar em descontroles de sistemas enzimáticos responsáveis pela coordenação do crescimento como os ligados à oxiredução e inibição de hormônios.

A enzima peroxidase estudada no presente trabalho tem sido apontada como implicada na regulação de crescimento e diferenciação celular *(GALSTON & DALBERG, 1954; EVANS e MATHAN, 1962; MATHAN, 1962* (cf. Muller, 1960); *SHANNON, 1968)*. Segundo *SHANNON (1968)* a aplicação de ácido indolacético (AIA) em plantas de ervilha reprime a atividade de peroxidase. Por outro lado, *BETEZ, 1960* (cf. Stonier et al., 1970) verificou a capacidade de cisteína levar à inibição da ação oxidativa catalizada por peroxidase sobre o AIA.

Devido à implicação de peroxidase e compostos SH na regulação metabólica, estudamos a influência da radiação gama em presença e ausência de cisteína, não só sobre a atividade de peroxidase, como também no crescimento do caule de plantas de ervilha de sementes irradiadas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

2.1.1. Sementes

Foram usadas sementes morfológica e geneticamente uniformes de ervilha (*Pisum sativum* var. Perfectah IAC-170) cujas características mais importantes, dentro dos padrões para sementes no Boletim da CATI-1970, são os seguintes em termos de percentagem mínima: pureza 98%, germinação 85% e umidade 12%.

2.1.2. Reagentes

a. substâncias sulfidrílicas - cloridrato de DL-cisteina.H_2O (Nutritional Biochemichal Corporation).
b. ensaio enzimático - para as determinações da atividade enzimática foram usados: pirogalol, H_2O_2, tampão fosfato.

Todos os reagentes utilizados eram produtos de grau analítico.

2.1.3. Aplicação da radiação

Para irradiação gama, foi utilizada uma fonte de cobalto (^{60}Co), do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA).

2.1.4. Instrumentos e aparelhos

Câmara de germinação e crescimento: Growth Lab., PW. 132 Percival, USA., do Setor de Radiogenética do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), munida de contrôle de temperatura e umidade. As centrifugações foram feitas em centrífuga refrigerada (International Refrigerated Centrifuge, modelo PR-2). Os cortes histológicos foram obtidos em micrótomo para parafina. Nas medidas dos cortes histológicos foi usado microscópio Zeiss Winkel, e lente graduada.

Foram utilizados fotomicroscópio e câmara clara para obtenção, respectivamente, de fotografia e desenhos.

2.2. Métodos

2.2.1. Porcentagem de germinação

A determinação da porcentagem de germinação foi feita com quatro repetições, em placas de Petri contendo vinte sementes cada uma, mantidas à temperatura de 25,5°C, obtendo-se 78,5% de germinação. Foi adotado como critério de germinação o rompimento do testa com ereção do caulículo após 3 dias. As sementes adquiridas para nosso trabalho sempre foram acondicionadas em sacos plásticos e conservadas à temperatura de 22°C.

2.2.2. Conteúdo de água nas sementes

As sementes após serem pesadas foram colocadas em estufa a 100°C e pesadas diariamente até peso constante. Foram usadas 6(seis) repetições com trinta sementes cada uma. O conteúdo em água foi de 13,68%.

2.2.3. Doses de radiação

Foram selecionadas sementes quanto à uniformidade de aspecto, vigor e tamanho. 25 sementes foram colocadas em um disco de isopor e distribuídas em círculo, distando 30 cm do centro de radiação e adaptado coaxialmente à abertura circular de onde emerge o cilindro irradiador da fonte de ^{60}Co. A intensidade de dose nesta distância foi de 10,5 krad/hora para cada dose empregada. As doses de radiação foram 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 kr.

Após a irradiação, as sementes foram deixadas em embebição durante quatro horas em um volume de água pré-estabelecido. Vinte e cinco sementes de cada tratamento (dose) convenientemente semeadas em areia grossa, em nove caixas de madeira, permaneceram em câmara

CENA
Biblioteca

de germinação e crescimento à temperatura de 25,5°C e regadas com água durante quinze dias.

Foram seguidos dois critérios para a determinação do efeito das diferentes doses de radiação sobre as plantas: a. medidas do comprimento do caule a partir do ponto de inserção dos cotiledones ao primeiro nó, nas plantas sobreviventes em todas as doses; b. determinação do peso seco de todas as plantas sobreviventes nas nove doses, com exceção dos cotiledones. Foi usado este critério, e não o da porcentagem de sobreviventes pelo fato de que,em doses baixas, o número de indivíduos pode diminuir, embora a elongação e massa se desviam deste comportamento fisiológico.

As curvas demonstrativas do efeito das doses encontram-se na Figura 1. Foram escolhidas as doses 5 krad e 35 krad que estimularam e deprimiram o desenvolvimento, respectivamente.

2.2.4. Tratamentos

Foram estabelecidas as seguintes combinações entre as doses de 5 krad, 35 krad e cisteína (1×10^{-3}M):

R_o: (controle) - as sementes não irradiadas e não tratadas com cisteína.

R_o + C: (controle) - as sementes não irradiadas e tratadas com cisteína.

R_1: sementes irradiadas (5 krad) e não tratadas com cisteína.

R_1 + C: sementes irradiadas (5 krad) e tratadas com cisteína.

R_2: sementes irradiadas (35 krad) e não tratadas com cisteína.

R_2 + C: sementes irradiadas (35 krad) e tratadas com cisteína.

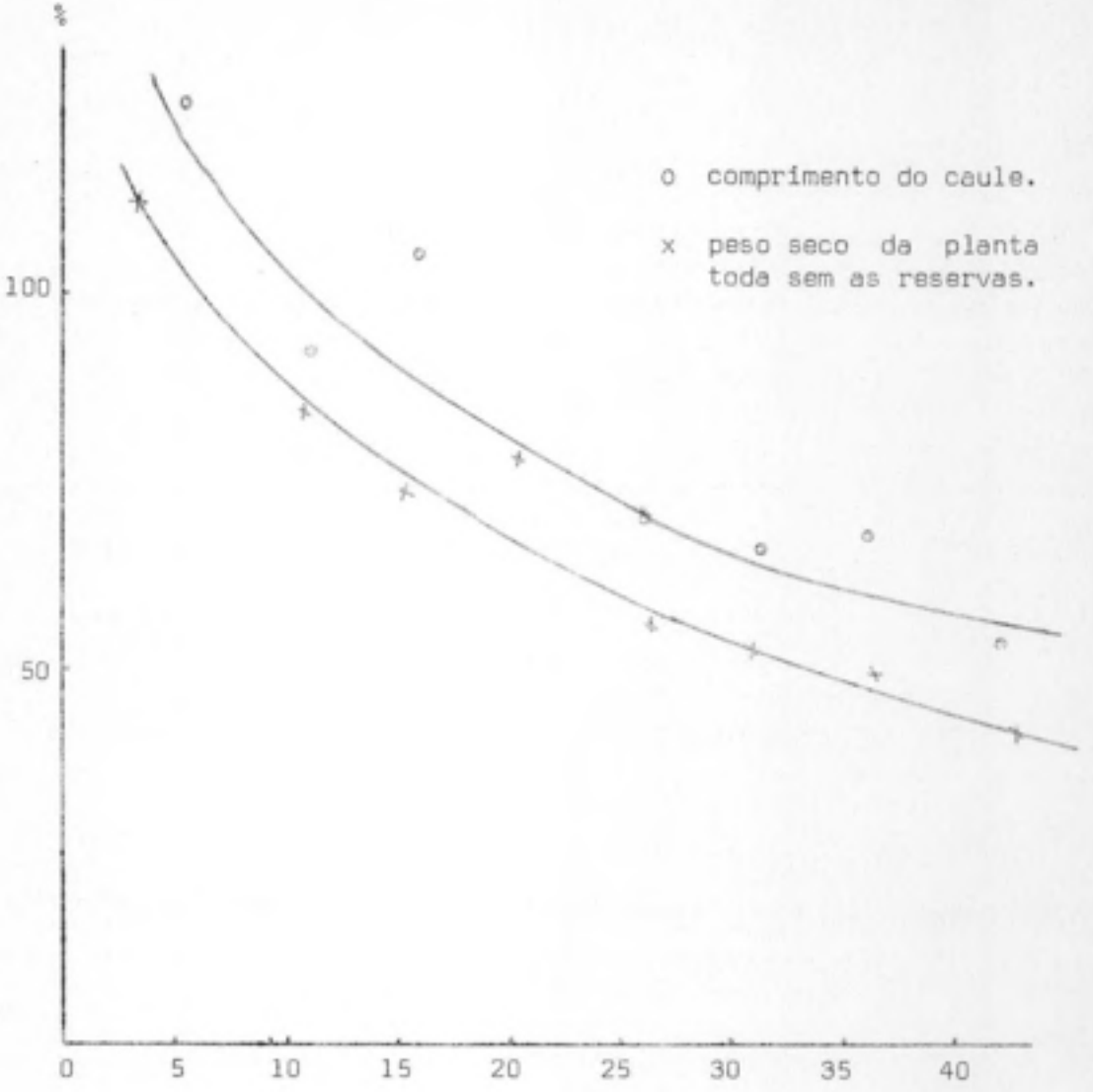

Figura 1 - Efeito de diferentes doses de radiação gama sobre o conteúdo de matéria seca e comprimento do caule dos sobreviventes, 15 dias após a irradiação, em relação ao controle.

2.2.5. Exposição à radiação

Para os ensaios de atividade enzimática e cortes histológicos as sementes foram selecionadas endividualmente, utilizando-se das seguintes características macroscópicas: vigor, aparência e tamanho, a fim de se obter uniformidade. Este critério qualitativo foi escolhido a fim de se evitar possíveis diferenças de massa na absorção de energia, e eventuais contrastes de respostas aos níveis fisiológico e bioquímico.

As sementes dos tratamentos R_1 e R_2 foram colocadas em frascos especiais de plástico, que em suportes rotatórios a 25 cm da fonte receberam 5 krad e 35 krad, sendo a intensidade de dose igual a 10,5 krad/hora. Terminada a exposição à radiação, foram imediatamente imersas em água ou solução de cisteína 1×10^{-3}M, e mantidas nestas condições durante 4 horas.

2.2.6. Tratamento com cisteína

720 sementes irradiadas e não irradiadas foram distribuídas uniformemente em 2 lotes de 360 sementes para cada tratamento, em placas de Petri, recebendo 35 ml de água ou 35 ml de solução de cisteína 1×10^{-3}M. Após quatro horas de embebição toda água ou solução havia sido absorvida com entumescimento ideal para a semeadura.

2.2.7. Semeadura

As sementes foram semeadas em areia grossa umedecida contida em caixasde madeira e mantidas em câmara de crescimento à temperatura de 25,5°C. A rega foi feita sistematicamente às 20 horas, 0 horas, 8 horas e 12 horas.

2.2.8. Coleta das sementes

Para todos os tratamentos, colheram-se as sementes em intervalos de 12 horas após a semeadura, durante três dias. Em cada colheita as sementes eram lavadas rapidamente, os embriões extirpados,

secos em papel de filtro, pesados e mantidos dentro de beckers imersos meio corpo em cubas de isopor contendo gelo moído, até o momento da extração.

2.2.9. Extrato enzimático

1,0 g de material fresco foi extraído com areia lavada e 10,0 ml de tampão fosfato 0,67 M, pH 6,8, durante 2 minutos em almofariz mantido em banho de gelo. O extrato foi centrifugado a 10.000 r.p.m., 20 min., a 4°C. Os sobrenadantes foram transferidos para tubos de ensaio previamente imersos em gelo. Cada tratamento, na concentração inicial de 1:10 foi transferido para sala mantida a 22°C, diluído à 1:50, esperando-se 5 minutos para estabilização da temperatura.

2.2.10. Determinação da atividade de peroxidase

Foi seguido o método por *McCUNE e GALSTON (1959)*. A mistura de reação continha 0,3 ml do extrato enzimático (diluição 1:50), 0,2 ml de pirogalol (0,2 M) e tampão fosfato suficiente para completar o volume de 9,0 ml. No tempo zero adicionou-se 1,0 ml de H_2O_2 1×10^{-3}M ao tubo de ensaio, agitando-se rapidamente e transferindo-se para o tubo de fotocolorímetro; a leitura foi feita a 420 nm. A formação progressiva da cor foi acompanhada em intervalos de 15 segundos até 2 minutos, lendo-se as transmitâncias. A atividade enzimática foi calculada tomando-se a diferença entre a leitura a 15 segundos e 45 segundos, multiplicando-se o valor por dois. Essa atividade foi expressa em D.O./0,3 ml extrato/min. Os substratos H_2O_2 e pirogalol foram preparados no momento do ensaio em tampão fosfato gelado, e deixados para equilíbrio a 22°C. As concentrações utilizadas foram ensaiadas previamente com sementes e "seedlings" a fim de se verificar a região linear de trabalho.

CENA
3223
Biblioteca

2.2.11. Medidas histológicas

Considerando-se a distância de 0,5 cm acima do ponto de inserção dos cotiledones, foram colhidas três amostras de 0,5 cm do caulículo de plantas com 72 horas de idade, de cada repetição. Cada amostra foi fixada, incluída em parafina e cortada em micrótomo na espessura de 12 µ, utilizando-se a técnica convencional. Dos cortes, obtidos das três repetições por tratamento, foram desprezados aqueles das extremidades das fitas de parafina, aproveitando-se os mais centrais, que foram distribuídos em número de 40 em cada lâmina de uma série de 12 lâminas.

Dos cortes aumentados 125x foram feitas medidas no cilindro central nas seguintes regiões: a) distância entre fibras de floema laterais ao metaxilema (Fig. 2,A); b) distância de meta a metaxilema conforme ilustrado na Figura 2,A, tomando como ponto de referência o pacote de fibras corticais mais afastado do estelo. As medidas foram representadas pelos valores absolutos da escala graduada da ocular.

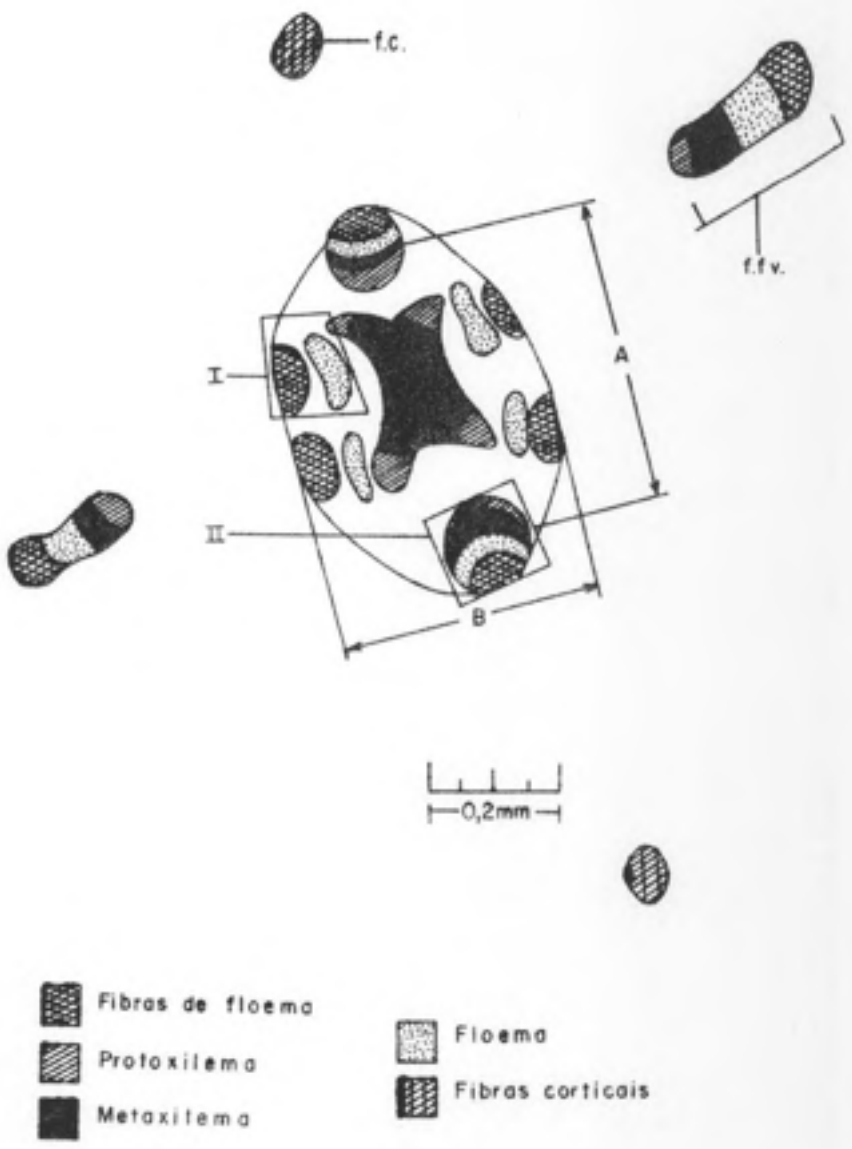

Figura 2 - Aspecto geral do caule em corte transversal, mostrando o estelo com os feixes corticais (f.c.) polares, e fibras fibrovasculares (f.fv.). - I e II são esquemas de região do estelo utilizada como ponto de referência nas medidas - A - representa a distância entre metaxilemas de polos opostos e - B - a distância entre fibras de floemas laterais, no polo onde o conjunto de fibras corticais (f.c.) estão mais afastadas das fibras floemáticas polares do estelo.

3. RESULTADOS

3.1. Atividade de Peroxidase

O efeito das duas doses de radiação (R_1 = 5 krad e R_2 = 35 krad), cisteína e interação RxC na atividade de peroxidase após 48 horas de aplicação das doses, é mostrado na Tabela 1. Uma melhor visualização desses dados foi obtida quando os mesmos foram transformados em porcentagens dando-se ao controle R_o o valor 100 (Tabela 2).

TABELA 1 - Média dos valores da atividade de peroxidase expressa em D.O./0,3 ml extrato/min.

Tempo / Tratamentos	48 horas
R_o	0,222
R_o + C	0,212
R_1	0,193
R_1 + C	0,220
R_2	0,192
R_2 + C	0,202

TABELA 2 - Efeito das doses R_1, R_2, cisteína e interações R_1 X C, R_2 X C, 4 horas após os tratamentos, na atividade de peroxidase.

Tratamentos \ Tempo	48 horas
R_o	100 %
R_o + C	95,5 %
R_1	86,9 %
R_1 + C	99,1 %
R_2	86,5 %
R_2 + C	91,0 %

Medidas de tecidos do estelo no sentido transversal nos diferentes tratamentos: R_o, R_1, R_1 + C, R_2 e R_2 + C.

3.2. Medidas histológicas

O esquema apresentado na Fig. 2 ilustra as regiões do estelo utilizadas para as medidas das variações em tamanho após 72 horas dos referidos tratamentos nas sementes. Essas medidas foram feitas através de câmara clara a partir do corte transversal de caule do controle R_o. Nas Tabelas 3 e 4 estão as médias dos valores das medidas histológicas (expressas em micra no tempo 72 horas e porcentagens em relação ao controle R_o (nível 100%) nos tratamentos R_o, R_o + C, R_1, R_1 + C e R_2 + C.

TABELA 3 - Médias dos valores das medidas histológicas de metaxilema a metaxilema no tempo de 72 horas.

TRATAMENTOS	MÉDIAS	%
	μ	
R_o	41,24	100,0
R_o + C	47,36	114,8
R_1	47,48	115,1
R_1 + C	45,88	111,3
R_2	44,52	107,9
R_2 + C	41,04	99,5

TABELA 4 - Médias dos valores das medidas histológicas de distância entre fibras de floema laterais ao metaxilema, no tempo de 72 horas.

TRATAMENTOS	MÉDIAS	%
	μ	
R_o	34,68	100,0
R_o + C	38,00	109,6
R_1	39,96	115,2
R_1 + C	37,32	107,6
R_2	39,56	114,1
R_2 + C	33,40	96,3

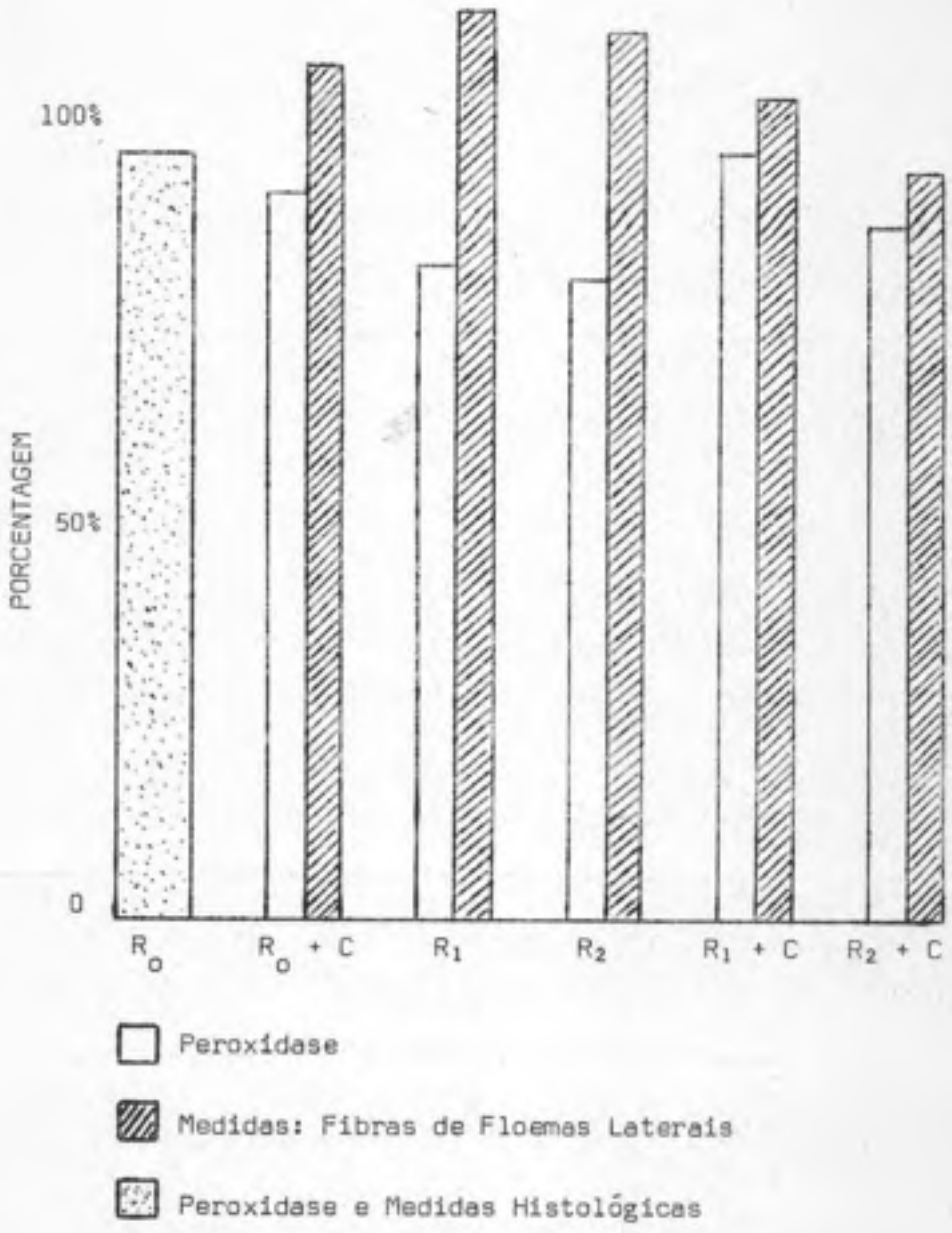

Figura 3 - Efeito das duas doses de radiação R_1(5 krad) e R_2(35 krad), e cisteina na atividade de peroxidase (tempo 48 horas), e no tamanho da região transversal do estelo; distâncias entre fibras de floemas laterais no tempo 72 horas. (Região B da Figura 1).

CENA
Biblioteca

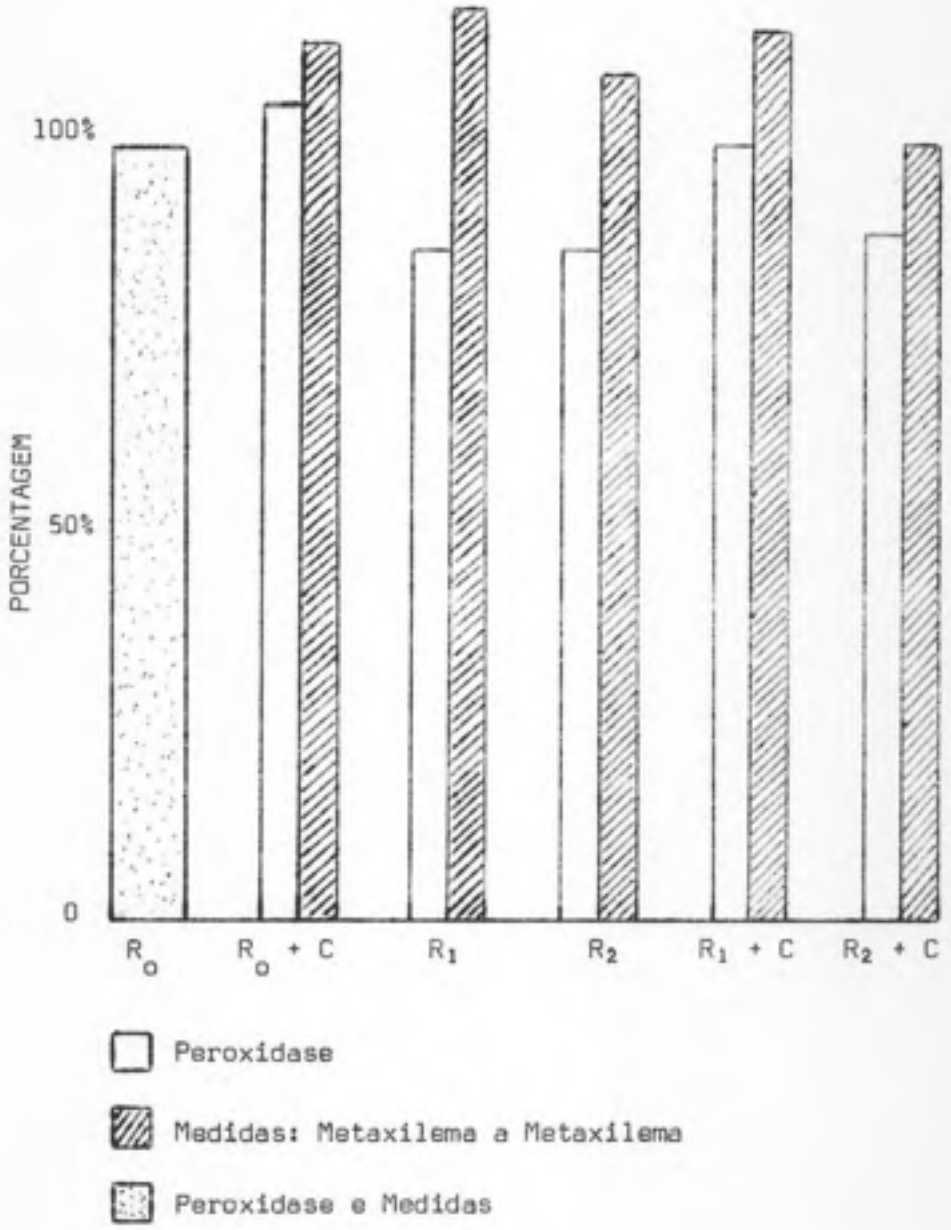

Figura 4 - Efeito das duas doses de radiação R_1(5 krad) e R_2(35 krad), e cisteina na atividade de peroxidase (tempo 48 horas) e no tamanho da região transversal do estelo: distância entre metaxilemas polares opostos no tempo 72 horas. (Região A da Figura 1).

Como se pode verificar pelos dados das Tabelas 1, 2, 3 e 4 e pelas Figs. 3 e 4, no tratamento R_o + C ocorreu uma influência da cisteína diminuindo a atividade enzimática de 4,5% em relação a R_o, enquanto que as doses R_1 e R_2 diminuiram a atividade de peroxidase de 13,1% e 13,5%, respectivamente.

Quanto às interações R_1 x C e R_2 x C em relação a R_o, os dados revelam que, enquanto a primeira faz com que o valor da atividade peroxidásica se aproxime do valor do obtido para o tratamento R_o (a diferença em porcentagem entre ambos é de 0,9%), na segunda (R_2 x C) observa-se uma tendência do valor da atividade enzimática se aproximar do valor R_o + C, o que é evidenciado nas Figs. 3 e 4.

Considerando-se as medidas histológicas do estelo verificamos que tanto a radiação gama (doses de 5 e 35 krad) como cisteína, isoladamente, provocam aumento das regiões consideradas (ver Fig.2), quando comparadas com o controle R_o. Quando combinadas (R_1 x C e R_2 x C) os efeitos acima diminuem, os valores das medidas R_1 x C aproximando-se dos valores de R_o x C e os de R_2 x C aos de R_o.

4. DISCUSSÃO

O decréscimo da atividade de peroxidase pela ação da radiação gama nas doses 5 krad (R_1) e 35 krad (R_2) após 48 horas, é bastante considerável. A cisteina isoladamente também mostrou ter efeito depressor na atividade enzimática embora em proporção menor. Os efeitos de radiação e cisteina quando combinados agem entre si e tendem a inibição mútua de seus efeitos, levando a um processo de normalização da atividade enzimática.

No caso do tratamento 5 krad (R_1) e cisteina, os valores da atividade se aproximam daqueles obtidos para o controle (R_o), enquanto que para o tratamento 35 krad (R_2) e cisteina os valores tendem a alcançar aqueles obtidos para o tratamento R_o e cisteina, mostrando que o dano provocado pela dose 35 krad é de recuperação mais difícil pelo uso de cisteina. A cisteina provavelmente, durante seu efeito recuperador ou protetor, atue através dos níveis físico-químico *(cf. ELDJARN e PIHL, 1960)* e matabólico *(BACQ e ALEXANDER, 1964 e NAGY et al., 1968)*.

Se por um lado, cisteina e radiação (R_1 e R_2) isoladamente, deprimiram a atividade de peroxidase, por outro lado aumentaram as ragiões transversais de tecidos do estelo, mostrando que peroxidase e cisteina estão envolvidas nos processos de regulação de crescimento e divisão celular.

Isto se tornou evidente, quando na interação radiação e cisteina (R_1 x C) não só houve praticamente restabelecimento da atividade de peroxidase, como ainda atuou com seu efeito estimulador, tal como ocorreu para o tratamento R_o x C, levou ao aumento de regiões de tecidos medidas em relação ao controle.

Considerando-se a interação R_2 x C, o efeito foi apenas recuperador da atividade enzimática, e a tendência dos valores das regiões histológicas medidas foi somente a de se aproximar daqueles obtidos para o controle (R_o) pois, como já vimos, o efeito da dose 35 krad é mais injurioso do ponto de vista de recuperação por cisteina.

No caso de redução da atividade peroxidásica por radiação (R_1 e R_2) ou cisteina, e um aumento nas regiões de tecidos medidas, encontra apoio em trabalhos de *OCKERSE et al. (1966)* (cf. *SHANNON, 1968)* e *GALSTON e DALBER (1954)*, que verificaram a repressão da atividade de peroxidase quando os teores de AIA se elevam na planta. Portanto uma diminuição da atividade de peroxidase poderia levar a um aumento de AIA e induzir um crescimento maior do vegetal.

No caso de doses de radiação isoladas, observou-se que para 5 krad tanto houve crescimento em comprimento do caule (Fig. 2) como em espessura (Figs. 3 e 4, tratamentos R_1 e R_2).

É bastante provável que a recuperação da atividade de peroxidase e crescimento na presença de cisteina esteja relacionada ao fato de que tiois participem da inibição da ação oxidativa catalizada por peroxidase sobre AIA *(STONIER et al., 1970)*.

Os dados deste trabalho nos dão uma idéia da ação metabólica da cisteina e radiação gama, podendo interferir com a expressão da informação genética a qual determina forma e função da célula. Estudos mais profundos desta natureza, poderão trazer luz às interações entre fatores genéticos e externos quando se trabalha ao nível enzimático.

5. CONCLUSÕES

Das medidas bioquímicas e histológicas realizadas no presente experimento pode-se concluir que as doses de radiação 5 e 35 krads têm um efeito depressor sobre a atividade de peroxidase. Entretanto, essas mesmas doses determinam aumento nas áreas de tecidos transversais do estelo. Por sua vez, a cisteína tem efeito estimulante do crescimento do caule; quando em interação com as doses de 5 e 35 krads, o seu efeito é recuperador, sendo nesse particular mais eficiente no primeiro caso.

CENA
Biblioteca

6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o Auxílio Financeiro da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN, Rio) para a realização do presente trabalho, e também as facilidades de uso de equipamento oferecidas pelos Departamentos de Química e de Botânica da E.S.A."Luiz de Queiroz", USP, Piracicaba, e Departamento de Genética da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP.

7. BIBLIOGRAFIA

ALEXANDER, P. - Repair of radiation damage in a nucleoprotein by cysteamine. Nature, 193: 290-291, 1962.

BACQ, Z.M. & ALEXANDER, P. - Importance in radioprotection of the reaction of cells to sulphydryl and dissulfide compounds. Nature, 203: 162-164, 1964.

ELDJARN, L. & PIHL, A. - Mechanisms of protective and sensitizing action. In Mechanisms in Radiobiology (Maurice Errera & Arne Forssberg eds), Academic Press - New York, Vol. II, p. 231-296, 1964.

FORSSBERG, A. & NYBON, N. - Combined effects of cysteine and irradiation on growth and cytology of *Allium cepa*. Physiol. Plantar. 6: 78-95, 1953.

GALSTON, A.W. & DLABERG, L.Y. - The adaptative formation and physiological significance of indoleacetic acid oxidase. Amer. J. Bot. 40: 373-380, 1954.

GINOZA, W. & NORMAN, A. - Radiosensitivity molecular weight of tobacco mosaic virus nucleic acid. Nature, 179: 520-521, 1957.

GOUTIER, R. & BACQ, Z.M. - Inhibition due to radiation. In Metabolic Inhibitors (R.M. Rochester & J.M.Quastel, eds), Academic Press, N.York, Vol. II, p. 631-650, 1963.

MULLER, H.P. - Enzyme distribution in some radiation induced mutants of *Pisum sativum* with different internode lengths. Phytoch. 8: 1867-1877, 1969.

NAGY, Z.S., HERNADI, F., KOVACS, P. & VALYI, N. - Radiosensitivity of *Escherichia coli* 15T and the metabolic effect of cysteine. Rad. Res. 36: 652-660, 1968.

OCKERSE, R., SIEGEL, B.Z. & GALSTON, A.W. - Hormone induced repression of a peroxidase isozyme in plant tissue. Science: 51: 452-2, 1966.

POLLARD, E.C., GUILD, W.R., HUTCHINSON & SETLOW, K.B. - The direct action of ionizing radiation on enzymes and antigens. Progress in Bioch. and Bioph. Chem. 5: 72-108, 1955.

SANNER, T. & PIHL, A. - Fundamentals of enzyme inactivation by ionizing radiation. In Enzymological aspects of food irradiation. Vienna, IAEA, 1969, p. 23-35.

SHANNON, J.C. & LELAND, M. - Plant isoenzymes. Ann. Rev. Plant Physiol. 19: 187-210, 1968.

SUTTON, H.C. - Effects of radiations on catalase solution. I- Kinetics studies of inactivation. Biochem. J. 64: 447-450, 1955.

USSUF, K.K. & NAIR, P.M. - Effect of gamma irradiation on indole acetic synthesizing system in potatoes. Phytoch. 10: 929-937, 1971.