

INFLUÊNCIA DA AEROBIOSE E DA HIPOXIA NA ATIVIDADE DE ENZIMAS EM PLÂNTULAS DE ARROZ¹

ANGÉLICA POLENZ WIELEWICKI² e ANTONIO CARLOS SOUZA ALBUQUERQUE BARROS³

RESUMO - A simulação de condições ambientais adversas e o acompanhamento de algumas enzimas-chave durante o desenvolvimento das plântulas podem orientar os trabalhos de melhoramento genético de arroz. Assim, os objetivos deste trabalho foram detectar a presença da enzima álcool desidrogenase (ADH) na parte aérea das plântulas de arroz desenvolvidas em condições de aerobiose e de hipoxia, relacionar as atividades das enzimas glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) e malato desidrogenase (MDH) com a disponibilidade de oxigênio e comparar o crescimento da parte aérea das plântulas com as atividades das enzimas estudadas. Os tratamentos constituíram-se das temperaturas de 20, 25 e 30°C em condições de aerobiose e de hipoxia, aplicadas durante a germinação e crescimento inicial das plântulas de seis cultivares de arroz irrigado. Constatou-se que o comprimento das plântulas desenvolvidas sob aerobiose nas temperaturas de 25 e 30°C é maior do que em todos os outros tratamentos. A enzima álcool desidrogenase só é detectada em plântulas desenvolvidas em hipoxia e em temperaturas superiores a 20°C. A atividade das enzimas glutamato oxaloacetato transaminase e malato desidrogenase em plântulas desenvolvidas em aerobiose e em hipoxia varia em função da temperatura. Há maior atividade da enzima glutamato oxaloacetato transaminase em plântulas de IRGA 417 e da enzima malato desidrogenase em plântulas de IRGA 416, IRGA 417 e Bluebelle desenvolvidas em aerobiose do que em hipoxia.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L., arroz irrigado, crescimento de plântulas.

INFLUENCE OF AEROBIOSIS AND HIPOXY IN THE ACTIVITY OF THE ENZYMES IN RICE SEEDLINGS

ABSTRACT - The simulation of adverse environmental conditions and the monitoring of some key enzymes during the development of seedlings are able to orient the work of genetic improvement. Hence, this paper aims at: (a) detecting the presence of the enzyme alcohol dehydrogenase (ADH) in the seedling shoots developed under conditions of aerobiosis and of hipoxia; (b) relating the activities of the enzymes glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) and malate dehydrogenase (MDH) to the availability of oxygen; and (c) comparing the growth of the seedling shoots with the activities of the enzymes studied. The treatments consisted of the temperatures of 20, 25 and 30°C under conditions of aerobiosis and of hipoxia, used during the germination and initial growth of seedlings of six genotypes of flooded rice. It was observed that the length of the seedling developed under aerobiosis at the temperatures of 25 and 30°C is superior than that of all other treatments. The enzyme ADH was only detected in seedlings developed under hipoxia and at temperatures higher than 20°C. The activity of the enzymes MDH and GOT in seedlings developed under either aerobiosis or hipoxia varies across temperatures. There is a higher level of activity of the enzyme GOT in seedlings of IRGA 417 and of the enzyme MDH in seedlings of IRGA 416, IRGA 417 and Bluebelle developed under aerobiosis than under hipoxia.

Key words: *Oryza sativa* L., flooded rice, seedling growth

¹ Parte da Tese de Doutorado apresentada pelo primeiro autor à Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Pelotas, RS.

² Eng. Agr., Dr. Pesquisador IV da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO), Centro de Pesquisa de Sementes, Bairro Cerrito, Júlio de Castilhos, RS, CEP 98130-000. E-mail: angelica-wielewicki@fepagro.rs.gov.br

³ Eng. Agr.; Dr. Professor Adjunto da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Dep. de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), Caixa Postal 354, CEP 96010-900. Pelotas, RS. E-mail: acbarros@ufpel.tche.br

Recebido para publicação em 05-06-2003

INTRODUÇÃO

A qualidade das sementes é fundamental em programas de produção agrícola, visto que é por meio delas que as características agronômicas das cultivares obtidas pela pesquisa chegam aos agricultores. A análise de enzimas é importante no acompanhamento da transmissão de genes durante o melhoramento vegetal quanto à detecção do gene introduzido (FEDERIZZI, 1998), assim como na identificação de genótipos que possuam capacidade de adaptação diferenciada frente a um determinado estresse.

O efeito do ambiente e a interação entre genótipo e ambiente modificam a manifestação do potencial genético de um indivíduo, causando uma situação confusa no que se refere à identificação das plantas superiores (BARBOSA NETO, 1998). Porém, a simulação de condições ambientais adversas e o monitoramento de algumas enzimas-chave em diversos processos durante o desenvolvimento das plântulas pode orientar os trabalhos de melhoramento genético através da introdução de genes em plantas. Assim, a análise de enzimas a partir de plântulas possibilita a avaliação da expressão dos genes por meio das enzimas, já com as adaptações às condições ambientais que cada genótipo tem possibilidade de realizar (WIELEWICKI, 2001).

Segundo RICARD et al. (1994), o metabolismo celular em ambiente anaeróbico é alto o suficiente para permitir a síntese de DNA, RNA e de proteínas. Os autores mostram que muitas enzimas glicolíticas e fermentativas têm sua atividade aumentada em anaerobiose e afirmam que o metabolismo fermentativo faz com que plântulas de arroz sejam capazes de sobreviver e manter o metabolismo em níveis altos por longos períodos, o que contribui para a sobrevivência das plântulas de arroz sob hipoxia.

Na fermentação alcoólica, duas enzimas, a piruvato descarboxilase (PDC) e a álcool desidrogenase (ADH) atuam sobre o piruvato, produzindo etanol e CO₂ e oxidando NADH no processo. Dessa forma, as plantas adaptadas à hipoxia ou à anaerobiose, como o arroz, podem manter-se via metabolismo fermentativo (TAIZ e ZEIGER, 1991).

Conforme BEWLEY e BLACK (1994), o desenvolvimento da mitocôndria em plântulas de arroz sob anoxia não é muito diferente daquele em plântulas

aeradas. Há um aumento elevado de muitas enzimas do ciclo do ácido cítrico sob anoxia. No entanto, a fosforilação oxidativa obviamente não ocorre na ausência de oxigênio, mas quando as plântulas são transferidas de um ambiente sem oxigênio para outro com oxigênio abundante, a fosforilação oxidativa inicia quase que imediatamente.

A malato desidrogenase (MDH) atua na conversão do malato em oxaloacetato no ciclo do ácido cítrico, no ciclo do glioxilato, na gliconeogênese e também é precursor de aminoácidos, como o aspartato, asparagina, treonina, metionina, lisina e isoleucina (STRYER, 1996; DEY e HARBORNE, 1997). A remoção dos grupos α -amino, o primeiro passo no metabolismo da maioria dos aminoácidos, é promovida no processo de transaminação. Uma das mais importantes enzimas envolvidas nesse processo, segundo BEWLEY e BLACK (1994) é a glutamato oxaloacetato transaminase (GOT).

Como no Estado do Rio Grande do Sul (RS) apenas seis ancestrais contribuem com 86% dos genes dos genótipos mais semeados (RANGEL et al., 1996), seria possível especular que, como consequência dessa estreita base genética, os genótipos apresentam um alto grau de parentesco. No entanto, BONOW (1999) detectou diferenças entre genótipos por meio da análise de isoenzimas de *Oryza sativa* L, o que pode indicar que o comportamento dos genótipos de arroz semeados no RS também pode variar em função do ambiente.

Os objetivos deste trabalho foram detectar a presença da enzima álcool desidrogenase na parte aérea das plântulas de arroz desenvolvidas em condições de aerobiose e de hipoxia, relacionar as atividades das enzimas glutamato oxaloacetato transaminase e malato desidrogenase com a disponibilidade de oxigênio e comparar o crescimento da parte aérea das plântulas com as atividades das enzimas estudadas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nos Laboratórios de Análise de Sementes e de Bio-Sementes da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel na Universidade Federal de Pelotas, RS, durante o ano de 1998.

Sementes de arroz das cultivares El Paso 144, BR IRGA 409, BR IRGA 410, IRGA 416, IRGA 417 e Bluebelle pertencentes à classe de sementes básicas, produzidas, colhidas e beneficiadas na Es-

tação Experimental do Instituto Riograndense do Arroz (IRGA), em Cachoeirinha, RS na safra 1997/98, foram avaliadas quanto ao crescimento de plântulas. Da parte aérea das plântulas originárias dessas sementes foram avaliadas as atividades das enzimas álcool desidrogenase, glutamato oxaloacetato transaminase e malato desidrogenase.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias de tratamentos comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas com o programa SANEST (ZONTA e MACHADO, 1984). Na análise estatística dos géis de eletroforese foi utilizado o teste de Newman-Keuls ao nível de 5% de probabilidade realizado com o programa STATISTICA (STATSOFT, 1996).

No teste de crescimento de plântulas, vinte sementes foram distribuídas em rolos de papel, em linha a 4 cm da borda superior do papel, cobertas com outra folha e enroladas conforme método descrito por VIEIRA e CARVALHO (1994), com algumas adaptações. Assim, nos tratamentos de hipoxia, as sementes foram distribuídas em rolos de papel que foram colocados dentro de recipientes plásticos com água destilada suficiente para cobri-los por 24 horas, a seguir foram drenados e mantidos em ambiente aeróbio por 24 horas. Após este período foram novamente submersos, por mais 12 dias. A água de embebição e de submersão foi mantida nas temperaturas de 20, 25 e 30°C até o momento da avaliação. Na condição aeróbica, as sementes foram distribuídas em rolos segundo o método descrito anteriormente, porém o papel foi embebido com 2,5 vezes o seu peso com água destilada e submetidos às mesmas temperaturas. A avaliação das plântulas foi realizada aos sete dias após a implantação do teste, com base no comprimento da sua parte aérea.

Foi utilizada eletroforese horizontal em gel de poliacrilamida na análise da álcool desidrogenase, glutamato oxaloacetato transaminase e malato desidrogenase na parte aérea de plântulas que foram obtidas após 14 dias de crescimento sob condições controladas dos tratamentos de aerobiose e hipoxia, nas temperaturas de 20, 25 e 30°C, conforme descrito para o teste de crescimento de plântulas.

Os extratos foram obtidos pela maceração das plântulas em tampão usado no gel, na proporção de

5 de volume para 1 de peso de amostra, em placas de porcelana mantidas sobre cubos de gelo. O sistema de tampão utilizado foi descrito por SCANDALIOS (1969) e os géis de poliacrilamida a 7%. Os géis foram colocados em cubas eletroforéticas mantidas em câmara fria com temperatura entre 4 e 6°C. As migrações eletroforéticas foram feitas com uma diferença de potencial de 10 v/cm a 25 mA. Foram utilizados sistemas de coloração citados por ALFENAS (1998) para as enzimas estudadas. Os géis foram fotografados e digitalizados utilizando o "Kodak Electrophoresis Documentation and Analysis System" (EDAS 120) e as bandas foram identificadas pelo programa Gel-Pro Analyzer^(TM) (MEDIA CYBERNETICS, 1997), com o qual também calculou-se as densidades relativas das bandas utilizando como padrão, uma banda da canaleta dez de cada gel, cuja densidade relativa era de 100%. Esta banda foi escolhida como padrão pela sua posição central no gel, oferecendo a melhor base de comparação possível entre as demais bandas no mesmo gel. Dessa forma, a avaliação da quantidade de proteína em cada banda foi comparada entre os diferentes tratamentos testados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 mostra que a temperatura de 20°C limita o crescimento das plântulas de arroz de todos os genótipos estudados, tanto em aerobiose como em hipoxia, mostrando que dos genótipos testados, todos podem ter seu crescimento afetado quando a semeadura é realizada no início da primavera e/ou em regiões onde a temperatura média nos meses de setembro e outubro são inferiores a 25°C. A limitação da temperatura para o crescimento das plântulas de arroz irrigado se mostra importante não só para o sistema pré-germinado, como também para os demais sistemas de cultivo desta cultura.

Por outro lado, quando a temperatura de crescimento das plântulas foi elevada a 25 e 30°C, a medida da parte aérea das plântulas foi maior quando elas cresceram em ambiente aeróbico. Se pode observar na Tabela 1 que os genótipos El Paso 144 e IRGA 417 mostraram maior crescimento na temperatura de 30°C do que na temperatura de 25°C em aerobiose.

Para o sistema pré-germinado o crescimento inicial rápido é importante para o estabelecimento

da lavoura, uma vez que, após a parte aérea da planta crescer mais que altura da lâmina d'água, inicia-se a fotossíntese e, só então, o sistema radicular dessas plantas irá se desenvolver. A Tabela 1 mostra que as plântulas dos genótipos El Paso 144, BR IRGA 410 e Bluebelle cresceram mais na temperatura de 25°C do que na de 30°C, quando em hipoxia. Estas informações indicam que as plântulas desses genótipos podem ser mais capazes de transformar as reservas nutricionais de suas sementes em metabólitos e novas células para o crescimento das plântulas em temperaturas mais amenas, do que os demais genótipos.

Na ausência de oxigênio, o ciclo do ácido cítrico e a cadeia de transporte de elétrons, que

são as principais formas de produção de energia nas células, não podem atuar, mas a expressão de genes envolvidos na glicólise e na fermentação alcoólica, como por exemplo gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, enolase, álcool desidrogenase e piruvato descarboxilase, é fortemente induzida (UMEDA e UCHIMIYA, 1994). Essa indução é essencial quanto à tolerância de plantas à anaerobiose (NAKAZONO et al., 2000). Na opinião de ZENG et al. (1998), a chave para a regulação de alguns genes responsivos ao açúcar em anaerobiose é o fluxo de carbono através das primeiras enzimas da glicólise e isso só é possível quando a enzima álcool desidrogenase está ativa.

Tabela 1. Comprimento médio (cm) da parte aérea de plântulas de genótipos de arroz em razão da temperatura e das condições de aerobiose e hipoxia. Pelotas, 1998.

Disponibilidade de oxigênio	Temperatura (°C)	El Paso 144	BR IRGA 409	BR IRGA 410	IRGA 416	IRGA 417	Bluebelle
Hipoxia	20	1,54 de*	1,91 c	2,22 cd	2,28 cd	2,61 d	1,24 d
Hipoxia	25	3,15 c	3,90 b	3,90 b	2,28 b	3,86 c	2,88 c
Hipoxia	30	2,08 d	3,26 b	2,68 c	2,78 bc	3,22 cd	1,27 d
Aerobiose	20	1,11 e	1,31 c	1,62 d	1,31 d	1,43 e	1,12 d
Aerobiose	25	5,36 b	6,09 a	5,89 a	6,13 a	6,63 b	4,62 b
Aerobiose	30	6,29 a	6,75 a	6,52 a	6,63 a	7,37 a	6,65 a
CV %		8,5	10,6	12,8	16,5	8,1	16,6

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A técnica utilizada não detectou a enzima ADH na parte aérea das plântulas do tratamento de hipoxia na temperatura de 20°C nem nos tratamentos aeróbicos, tendo sido detectada, somente, na parte aérea das plântulas desenvolvidas em hipoxia com temperaturas de 25°C e 30°C. A influência da temperatura na atividade enzimática foi discutida por TAIZ e ZEIGER, 1991; LEHNINGER et al., 1995; STRYER, 1996, os quais constataram que a atividade enzimática é reduzida com o decréscimo na temperatura. No presente trabalho, as plântulas apresentaram pequeno crescimento da

parte aérea na temperatura de 20°C (Tabela 1) e pode-se supor que, nessa temperatura, a enzima não apresentou condições para expressar sua atividade ou que não foi sintetizada, ou ainda que, pode não ter havido ausência total de oxigênio e, considerando que em temperaturas menores o consumo de oxigênio é menor, a pequena quantidade de oxigênio disponível na água tenha sido suficiente para a manutenção da respiração celular. Houve uma indução diferenciada da ADH entre os genótipos testados nas temperaturas de 25 e 30°C, como pode ser observado nas Figuras 1 e 2.

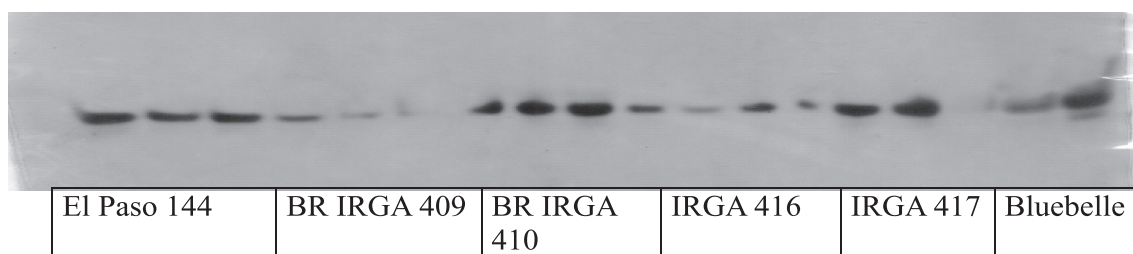


Figura 1. Zimograma de álcool desidrogenase obtido a partir da parte aérea de plântulas desenvolvidas em hipoxia na temperatura de 25°C. Pelotas, 1998.

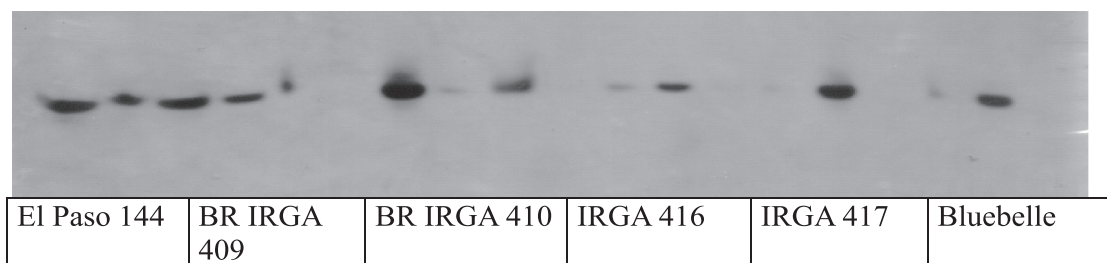


Figura 2. Zimograma de álcool desidrogenase obtido a partir da parte aérea de plântulas desenvolvidas em hipoxia na temperatura de 30°C. Pelotas, 1998.

Os géis da ADH mostram uma atividade intensa dessa enzima nas plântulas de El Paso 144, BR IRGA 410 e IRGA 417 nas temperaturas de 25°C e 30°C. Se esta enzima é responsável pela principal forma de produção de energia em anaerobiose (NAKAZONO et al., 2000; BEWLEY e BLACK, 1994; RICARD et al., 1994; COUÉE et al., 1992; TAIZ e ZIEGER, 1991), pode-se questionar porque as plântulas destes genótipos não cresceram mais que, ou tanto quanto, as plântulas dos outros genótipos na condição de 30°C e hipoxia.

Alguns autores sugerem rotas bioquímicas alternativas ao processo fermentativo: NAKAZONO et al. (2000) asseguram que em plantas de arroz, durante a anaerobiose, o piruvato pode ser convertido a acetil-CoA pela seqüência de ações da piruvato descarboxilase (PDC), aldeído desidrogenase (ALDH) e acetil-CoA sintetase (ACS). TADEGE e KUHLEMEIER (1997), citados por NAKAZONO et al. (2000) propuseram que acetil-CoA produzido através da seqüência PDC/ALDH/ACS pode ser utilizado como um substrato no ciclo do ácido cítrico, síntese de lipídios e ciclo do glicolato. Em razão destes estudos, NAKAZONO et al. (2000) propõem a hipótese de uma rota similar ocorrer em arroz sob condições de hipoxia, e que o acetil-Coa produzido via PDC/ALDH/ACS pode ser importante na síntese de uma série de intermediários no pro-

cesso de adaptação do arroz à anaerobiose ou à hipoxia. É possível que as plântulas que apresentaram menor atividade da ADH do que as originárias das sementes das cultivares El Paso 144, BR IRGA 410 e IRGA 417 e que cresceram mais, tenham utilizado vias alternativas na produção de energia, ou na biossíntese de moléculas no crescimento celular em hipoxia. USHIMARU et al. (1997) afirmam que o oxigênio molecular produz espécies de oxigênio ativo por várias reações bioquímicas e que este fenômeno pode representar a adaptação ao estresse provocado por baixos níveis de oxigênio. ARIKAWA et al. (1999) sugerem também rotas alternativas ao ciclo do ácido cítrico em anaerobiose.

A enzima glutamato oxaloacetato transaminase esteve mais ativa em aerobiose sendo que a temperatura influenciou de forma diferenciada os tratamentos aeróbicos (Tabela 2). As plântulas de El Paso 144 desenvolvidas em aerobiose na temperatura de 25°C não apresentaram atividade em relação a uma isoenzima que se fez presente nos outros tratamentos. Esse fato refletiu na densidade relativa total da GOT neste genótipo (Tabela 2). A temperatura da água de submersão das plântulas de arroz parece atuar sobre o mecanismo de ação enzimática aumentando a atividade da GOT nas plântulas da maioria dos genótipos nas temperaturas mais altas. Com poucas exceções, a atividade

de GOT foi maior em aerobiose do que em hipoxia (Tabela 2). Se essa enzima está relacionada com a transaminação e rearranjo de aminoácidos, pode-se deduzir que sua maior atividade em aerobiose

leva a uma maior produção de aminoácidos, maior possibilidade de síntese de proteínas e crescimento de plântulas (Tabela 2).

Tabela 2. Densidade relativa total da enzima glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) na parte aérea de plântulas e genótipos de arroz em razão dos tratamentos. Pelotas, 1998.

Disponibilidade de oxigênio	Temperatura (°C)	El Paso 144	BR IRGA 409	BR IRGA 410	IRGA 416	IRGA 417	Bluebelle
Hipoxia	20	183,33 b*	96,00 ab	133,67 a	478,67 b	31,75 c	52,47 b
Hipoxia	25	213,67 b	62,47 b	113,23 a	308,00 b	53,57 c	75,67 ab
Hipoxia	30	209,67 b	91,37 ab	126,00 a	599,00 b	62,07 c	66,97 ab
Aerobiose	20	262,00 a	126,63 a	187,67 a	722,33 ab	147,00 b	121,43 ab
Aerobiose	25	125,00 c	234,33 a	239,67 a	844,67 a	134,70 b	152,00 a
Aerobiose	30	281,67 a	230,00 a	193,67 a	940,00 a	179,67 a	118,77 ab
CV (%)		28,9	22,3	17,4	18,6	21,6	19,3

*Em cada coluna, médias seguidas por mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Newman-Keuls.

Quando plântulas de arroz se desenvolvem em submersão, o metabolismo celular se adapta às condições de estresse por deficiência de oxigênio. Para que essa adaptação ocorra, isoenzimas precisam ser sintetizadas e para tal, são necessários aminoácidos que dependem da ação da GOT para serem produzidos (BEWLEY e BLACK, 1994). Em função do envolvimento da GOT com a síntese de aminoácidos, é possível que condições ambientais que desfavoreçam sua síntese e atividade, prejudiquem também a síntese de aminoácidos e, assim, todo o desenvolvimento da plântula.

No presente trabalho, a atividade da GOT foi diferente em cada genótipo nos tratamentos aos quais as plântulas foram submetidas. Nesse sentido, pode-se afirmar que a capacidade de adaptação dos genótipos aos estresses ambientais como temperaturas baixas e deficiência de oxigênio, varia em função do metabolismo das plântulas.

A enzima MDH foi mais ativa em aerobiose do que em hipoxia nas duas bandas detectadas, e, conseqüentemente na atividade total da enzima (Tabela 3).

Tabela 3. Densidade relativa total da enzima malato desidrogenase (MDH) na parte aérea de plântulas de genótipos de arroz irrigado em razão dos tratamentos. Pelotas, 1998.

Disponibilidade de oxigênio	Temperatura (°C)	El Paso 144	BR IRGA 409	BR IRGA 410	IRGA 416	IRGA 417	Bluebelle
Hipoxia	20	217,50 ab	147,00 b	156,50 b	29,35 c	33,40 c	13,50 c
Hipoxia	25	172,33 ab	162,00 b	179,67 b	26,57 c	27,50 c	23,67 c
Hipoxia	30	228,67 ab	148,33 b	117,77 b	59,27 c	70,87 c	149,67 c
Aerobiose	20	363,33 a	226,67 ab	285,33 ab	329,67 a	470,33 b	467,33 b
Aerobiose	25	410,67 a	255,67 ab	299,20 ab	214,47 ab	698,33 b	567,00 ab
Aerobiose	30	368,00 a	432,00 a	446,47 ab	116,40 b	920,00 a	717,33 a
CV (%)		25,2	24,1	27,9	31,4	30,1	28,8

⁽¹⁾Em cada coluna, médias seguidas por mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade pelo teste de Newman-Keuls.

A atividade de MDH foi detectada tanto em aerobiose como em hipoxia. Em hipoxia, a primeira banda tem pouca densidade, podendo indicar que essa isoenzima tem baixa atividade na ausência de oxigênio. Resultados semelhantes foram constatados por USHIMARU et al.(1997) com as enzimas ascorbato peroxidase (APX), monohidroascorbato redutase (MDAR) e dehidroascorbato redutase

(DHAR) e por RIVOAL et al.(1997) com piruvato descarboxilase (PDC), com uma isoenzima apresentando pouca ou nenhuma atividade na ausência de oxigênio.

Os genótipos testados mostraram comportamentos diferenciados quanto a atividade da MDH. Os genótipos El Paso 144, BR IRGA 409 e BR IRGA 410 apresentaram uma variação da ativida-

de enzimática entre os ambientes aeróbico e de hipoxia menor do que os genótipos IRGA 416, IRGA 417 e Blubelle. Esta observação permite afirmar que os estudos enzimáticos devem ser continuados, buscando o conhecimento detalhado do comportamento de cada genótipo, com vistas a auxiliar os programas de melhoramento genético de arroz irrigado.

A constatação da atividade de MDH e GOT tanto em aerobiose quanto em hipoxia vai ao encontro das afirmações feitas por MERTENS et al.(1990), RIVOAL et al.(1997) e USHIMARU et al.(1997) e sugere a possibilidade de que a planta de arroz, sob anaerobiose, busca outros métodos para obter energia e manter a atividade metabólica em anaerobiose, não somente por meio da fermentação alcoólica.

CONCLUSÕES

O comprimento das plântulas desenvolvidas

sob aerobiose nas temperaturas de 25 e 30°C é maior do que em todos os outros tratamentos.

A enzima álcool desidrogenase só é detectada em plântulas desenvolvidas em hipoxia e em temperaturas superiores a 20°C.

A atividade das enzimas glutamato oxaloacetato transaminase e malato desidrogenase em plântulas desenvolvidas em aerobiose e em hipoxia varia em função da temperatura.

Há maior atividade da enzima glutamato oxaloacetato transaminase em plântulas de IRGA 417 e da enzima malato desidrogenase em plântulas de IRGA 416, IRGA 417 e Bluebelle desenvolvidas em aerobiose do que em hipoxia.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Riograndense do Arroz (IRGA) pela doação das sementes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A.C. **Eletroforese de Isoenzimas e Proteínas Afins**. Viçosa: UFV, 1998. 574p.
- ARIKAWA, Y.; KUROYANAGI, T.; SHIMOSAKA, M.; MURATSUBAKI, H.; ENOMOT, K.; KODAIRA, R.; OKAZAKI, M. Effect of gene disruptions of the TCA Cycle on production of succinic acid in *saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Bioscience and Bioengineering, Japan**, v.87, p.28-36, 1999.
- BARBOSA NETO, J. F. Seleção assistida por marcadores moleculares. In: MILACH, S. C. K. (Ed.) **Marcadores Moleculares em Plantas**. Porto Alegre: UFRGS, 1998. p.75-88.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: Physiology of Development and Germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BONOW, S. **Caracterização e análise de pureza varietal em genótipos de *Oryza sativa* L. através de isoenzimas**. Pelotas: UFPel, 1999. 44 p. (Dissertação de mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes.
- COUÉE, I.; DEFONTAINE, S.; CARDE, J.P.; PRADET, A. Effect of anoxia on mitochondrial biogenesis in rice shoots. Modification of *in organello* translation characteristics. **Plant Physiology**, Rockville, v. 98, p. 411-421, 1992.
- DEY, P. M.; HARBORNNE, J. P. **Plant Biochemistry**. San Diego: Academic Press, 1997. 554 p.
- FEDERIZZI, L. C. Estrutura de um programa de melhoramento de plantas e possíveis aplicações de marcadores moleculares: Visão do melhorista. In: MILACH, S. C. K. (Ed.) **Marcadores Moleculares em Plantas**. Porto Alegre: UFRGS, 1998. p.3-15.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 2. ed. São Paulo: SARVIER, 1995. 839 p.
- MEDIA CYBERNETICS. Gel – Pro Analyser Version 3.0 for Windows User's Guide. Media Cybernetics, L. P. Silver Spring, 1997.
- MERTENS, E.; LARONDELLE, Y.; HERS, H. Induction of pyrophosphate: fructose 6-phosphate 1-phosphotransferase by anoxia in rice seedlings. **Plant Physiology**, Rockville, v. 93, p. 584-587, 1990.
- NAKAZONO, M.; TSUJI, H.; LI, Y.; SAISHO, D.; ARIMURA, S.; TSUTSUMI, N.; HIRAI, A. Expression of a gene encoding mitochondrial aldehyde dehydrogenase in rice increases under submerged conditions. **Plant Physiology**, Rockville, v. 124, p. 587-598.
- RANGEL, P. H. N.; GIMARÃES, E. P.; NEVES, P. C. F. Base genética das cultivares de arroz (*oryza sativa* L.) irrigado do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.1, n.5, p.349-57, 1996.
- RICARD, B.; COUÉE, I.; RAYMOND, P.; SAGLIO, P.H.; SAINTGÈS, V.; PRADET, A. Plant metabolism under hypoxia and anoxia. **Plant Physiol Biochem**, Rockville, v. 32, p. 1-10, 1994.
- RIVOAL, J.; THIND, S.; PRADET, A.; RICARD, B. Differential induction of pyruvate decarboxylase subunits and transcripts in anoxic rice seedlings. **Plant Physiology**, Rockville, v.114, p.1021-1029, 1997.
- SCANDALIOS, J. G. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. **Biochemical Genetics**, New York, v.3, p. 37-39, 1969.
- STATSOFT, Inc. **STATISTICA FOR WINDOWS** (Computer Program manual). Tulsa, OK, 1996.

- STRYER, L. **Bioquímica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1995. 1000p.
- TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Plant Physiology**. 2. ed. Redwood City: The Benjamin/Cummings Publishing Company, 1991. 565 p.
- UMEDA, M.; UCHIMIYA, H. Differential transcript levels of genes associated with glycolysis and alcohol fermentation in rice plants (*Oryza sativa* L.) under submergence stress. **Plant Physiology**, Rockville, v. 106; p. 1015-1022. 1994.
- USHIMARU, T.; MAKI, Y.; SANO, S.; KOSHIBA, K.; ASADA, K.; TSUJI, H. Induction of enzymes involved in the ascorbate-dependent antioxidative system, namely, ascorbate peroxidase, monodehydroascorbate reductase and dehydroascorbate reductase, after exposure to air of rice (*Oryza sativa*) seedlings germinated under water. **Plant Cell Physiology**, 38 n. 5, p. 541-549, 1997.
- VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. de. **Testes de Vigor em Sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.
- WIELEWICKI, A.P. **Efeito da aerobiose e anaerobiose sobre a atividade enzimática e desenvolvimento inicial de plântulas de *Oryza sativa* L.** Pelotas: UFPel, 2001. 61 p. (Tese de Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes.
- ZENG, Y.; WU, Y.; AVIGNE, W.T.; KOCH, K.E. **Differential regulation of sugar-sensitive sucrose synthases by hypoxia and anoxia indicate complementary transcriptional and posttranscriptional responses**. **Plant Physiology**, Rockville, v. 116, p. 1573-1583, 1998.
- ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A. Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores – SANEST. Pelotas, 1984.