

ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE GENÓTIPOS DE ARROZ IRRIGADO SOB DIFERENTES CONDIÇÕES AMBIENTAIS¹

ANGÉLICA POLENZ WIELEWICKI² e ANTONIO CARLOS SOUZA ALBUQUERQUE BARROS³

RESUMO - O sistema de cultivo de arroz pré-germinado demanda genótipos com maior capacidade de desenvolvimento inicial em ambiente anaeróbico. Com o intuito de contribuir para o conhecimento das características dos genótipos El Paso 144, BR IRGA 409, BR IRGA 410, IRGA 416, IRGA 417 e Bluebelle, foi realizado um estudo comparativo das enzimas glutamato oxaloacetato transaminase (GOT), esterase (EST), e malato desidrogenase (MDH) na parte aérea de plântulas de arroz através de eletroforese. Os tratamentos consistiram de germinação e desenvolvimento das plântulas durante 14 dias sob as temperaturas de 20, 25 e 30°C, em condições de aerobiose e de anaerobiose. A análise dos géis permitiu concluir que as plântulas de IRGA 417 destacam-se das demais por apresentarem maior atividade das enzimas estudadas no tratamento anaeróbico com temperatura de 20 °C; e que a grande variabilidade das isoenzimas específicas em diferentes genótipos permite recomendar que os estudos de interação genótipo x ambiente utilizem sistemas bioquímicos para auxiliar na identificação de genótipos capazes de superar estresses ambientais.

Palavras-chave: eletroforese, aerobiose, anaerobiose, temperatura.

ENZYMATIC ACTIVITY OF FLOODED RICE GENOTYPES UNDER DIFFERENT ENVIRONMENTAL CONDITIONS

ABSTRACT - The pre-germinated rice growing system demands genotypes with a higher capacity of initial development in an anaerobic environment. Having in mind the need for better knowing the characteristics of the cultivars El Paso 144, BR IRGA 409, BR IRGA 410, IRGA 416, IRGA 417 and Bluebelle, this paper reports a comparative study of the enzymatic activity of glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), esterase (EST), and malate dehydrogenase (MDH), in the rice seedling shoots through electrophoresis. The treatments consisted in germination and development of the seedlings during 14 days at the temperatures of 20, 25 and 30°C under both aerobic and anaerobic conditions. The analysis of the electrophoresis gels leads to conclude that: a) The IRGA 417 seedlings stands out against the other cultivars because of its higher level of activity of the enzymes studied under the anaerobic treatment at the temperature of 20° C; and b) The great variability found in the enzymatic systems studied for the different genotypes and treatments used allow to recommend that studies of genotype x environment interaction use biochemical systems, in order to assist in the search for genotypes that are able to overcome environmental stress.

Key words: electrophoresis, aerobiosis, anaerobiosis, temperature.

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: angélica-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 produção de arroz irrigado no RS é responsável por 29 % da safra de grãos no estado, sendo cultivado em aproximadamente 950 mil ha, sob os sistemas convencional, de semeadura direta e mais recentemente, sob o sistema pré-germinado. O sistema pré-germinado traz uma série de vantagens sobre os demais, entre elas a possibilidade de semeadura na época recomendada independentemente das condições de precipitação pluviométrica, diminuição dos custos de produção e um melhor controle do arroz daninho que os demais sistemas (IRGA, 2000). Em função do crescimento da área cultivada com esse sistema no Rio Grande do Sul, pesquisadores têm buscado os melhores genótipos para utilização nesse sistema que, entre outras exigências, demanda genótipos com maior capacidade de desenvolvimento inicial em ambiente anaeróbico.

O desempenho das plântulas de arroz sob anaerobiose depende em parte do vigor das sementes utilizadas mas, por outro lado, depende da capacidade das plântulas degradarem as substâncias de reserva das sementes e transformá-las em novas biomoléculas para o crescimento da plântula até que essa atinja a superfície da água. Bastante já se conhece do metabolismo de açúcares em anaerobiose e da principal forma de obtenção de energia nessa condição ambiental, que é através da fermentação (XIE e WU, 1989; TAIZ e ZIEGER, 1991; COUÉE et al., 1992; PERATA e ALPI, 1993; RICARD, et al., 1994; GUGLIELMINETTI et al., 1995; HOSSAIN et al., 1996; RIVOAL et al., 1997; NAKAZONO et al., 2000).

Porém, outros processos são importantes além da produção de energia em anaerobiose, como disponibilizar aminoácidos para a síntese de proteínas e carbono e/ou precursores para o crescimento da plântula.

A enzima glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) é uma transaminase e segundo STRYER (1996), transfere grupamentos amina entre aminoácidos e alfacetoácidos para garantir a síntese de proteínas. Em função disso, sua atividade é de suma importância, pois se pode supor que, genótipos que tenham essa enzima com maior atividade em ambientes desfavoráveis podem ter maior possibilidade de se adaptarem aos estresses.

A enzima esterase (EST) está relacionada com o catabolismo de lipídios, a principal fonte de carbono para a síntese de novas moléculas em plântulas (BEWLEY e BLACK, 1994), uma vez que essas não realizam fotossíntese para fixação de carbono.

A malato desidrogenase (MDH) ocorre tanto na matriz mitocondrial como no citoplasma das células. Nas mitocôndrias atua no ciclo dos ácidos tricarbônicos convertendo o malato em oxaloacetato com a produção de $\text{NADH} + \text{H}^+$. Este e outros $\text{NADH} + \text{H}^+$ produzidos durante o ciclo dos ácidos tricarbônicos serão oxidados na fosforilação oxidativa para síntese de ATP, na presença de oxigênio (BEWLEY e BLACK, 1994; LENHINGER et al., 1995; STRYER, 1996). No citoplasma, a MDH catalisa a reação inversa de oxaloacetato (derivado do fosfoenolpiruvato) para malato produzindo NAD^+ que são necessários para a glicólise (CONTREIRAS, 1992). Outra observação importante foi feita por FOX et al. (1991), que as enzimas do Ciclo de Krebs estão presentes durante a germinação, indicando que, embora a fermentação alcoólica seja estimulada pela anoxia, essa via metabólica continua funcional durante a anaerobiose.

É necessário que se conheça mais sobre o metabolismo das plântulas de arroz em anaerobiose, para poder escolher genótipos com potencial de melhor adaptação às condições de cultivo pré-germinado no RS, que, além da anaerobiose, esbarra nas temperaturas baixas na época de semeadura do arroz. Comparando genótipos de arroz, CRUZ e MILACH (1999) observaram que houve variabilidade em relação à tolerância ao frio na germinação, sendo que alguns genótipos apresentaram bom nível de tolerância. MACKILL e LEI (1997) afirmam que temperaturas baixas são o principal estresse ambiental para o cultivo de arroz nos EUA quando esse é semeado cedo, mesmo que essa semeadura aconteça dentro da época normalmente recomendada. Aquele estudo também apontou diferenças significativas para tolerância ao frio entre genótipos Japônicos e Índicos.

Em função disso, o presente trabalho tem como objetivo comparar as enzimas glutamato oxaloacetato transaminase (GOT), esterase (EST) e malato desidrogenase (MDH) em plântulas de arroz desenvolvidas sob condições de aerobiose e anaerobiose em temperaturas de 20, 25 e 30°C em alguns genótipos utilizados na lavoura arrozeira do Rio Grande do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas isoenzimas dos genótipos de arroz irrigado El Paso 144, BR IRGA 409, BR IRGA 410, IRGA 416, IRGA 417 e Bluebelle, oriundas do Instituto Riograndense do Arroz. Foi utilizada eletroforese horizontal em gel de poliacrilamida para análise de glutamato oxaloacetato transaminase (GOT), esterase (EST) e malato desidrogenase (MDH) na parte aérea de plântulas.

As plântulas foram obtidas após 14 dias de crescimento sob as condições controladas dos tratamentos de aerobiose e anaerobiose nas temperaturas de 20, 25 e 30°C. Nos tratamentos de aerobiose as sementes foram dispostas sobre 2 folhas de papel para germinação umedecidos com 2,5 vezes o peso do papel com água destilada. Os rolos com 20 sementes cada foram colocados em germinadores nas temperaturas citadas. Para os tratamentos de anaerobiose, as 20 sementes foram colocadas em rolos de papel e estes acondicionados dentro de um recipiente plástico transparente, onde ficaram submersos em água destilada durante 24 horas. A água foi retirada e os rolos permaneceram fora das embalagens plásticas durante 24 horas e depois retornaram à submersão nos recipientes, que então foram colocados nos germinadores com as temperaturas de 20, 25 e 30°C.

Os extratos foram obtidos pela maceração de toda a parte aérea das plântulas em tampão utilizado no gel, na proporção de 5 de volume para 1 de peso de amostra, em placas de porcelana mantidas sobre cubos de gelo. Foram utilizados sistema de tampão descrito por SCANDALIOS (1969) e géis de poliacrilamida a 7 %. As migra-

ções eletroforéticas efetuaram-se em câmara fria mantida em temperatura entre 4 e 6 °C. A diferença de potencial foi de 10 V.cm⁻¹ e usou-se 25 mA, fazendo-se migrar até o fronte marcado pelo azul de bromofenol. Foram usados sistemas de coloração citados por SCANDALIOS (1969) para a enzima EST e ALFENAS (1998) para as enzimas MDH e GOT.

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 AnalyzerTM” (MEDIA CYBERNETICS, 1997), com o qual também calculou-se as densidades relativas das bandas utilizando como padrão, a banda número 2 da canaleta 10 de cada gel, considerando esta banda com densidade relativa 100%. Essa banda foi escolhida como padrão por estar numa 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 comparativa entre os diferentes tratamentos testados no experimento. Para a análise estatística dos géis de eletroforese foi utilizado o teste de Análise de variância e Newman-Keuls em nível de 5% de probabilidade de erro através do programa STATISTICA (STATSOFT, 1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As densidades relativas apresentadas nas tabelas foram obtidas através da soma das densidades relativas das bandas quando presentes em número maior do que uma nos zimogramas.

Tabela 1. Densidade relativa da enzima glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) na parte aérea de plântulas de diferentes genótipos de arroz irrigado submetidos a condições específicas de temperatura em aerobiose e em anaerobiose. Pelotas, 2000.

Genótipos	20°C		25°C		30°C	
	Aeróbico	Anaeróbico	Aeróbico	Anaeróbico	Aeróbico	Anaeróbico
El paso 144	250 ab	17,8 cd	290,3 a	122,4 a	169,4 a	150,3 a
BR IRGA 409	201 b	20,9 c	203,2 a	76,7 a	246,2 a	116,4 ab
BR IRGA 410	204 b	86,8 ab	387 a	63,6 a	168 a	112 ab
IRGA 416	301,2 ab	110,1 a	184 a	155,6 a	168,5 a	140 a
IRGA 417	345,7 a	70,5 abc	397,2 a	156,6 a	166,3 a	75,2 b
Bluebelle	291,3 ab	45,1 bcd	591 a	150,3 a	212,6 a	91,2 ab
CV (%)	26,87	27,96	23,99	27,29	28,43	27,5

*Médias não seguidas pela mesma letra na vertical diferem estatisticamente em nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste de Newman-Keuls.

A enzima GOT esteve presente em condições de aerobiose e de anaerobiose. Na temperatura de 25°C, tanto em aerobiose como em anaerobiose, bem como a 30°C em aerobiose, não foram observadas diferenças significativas entre os genótipos estudados, possivelmente porque estes sejam os tratamentos que ofereceram menores níveis de estresse para as plântulas (Tabela 1). Se destacam nessa análise os genótipos BR IRGA 410, IRGA 416 e IRGA 417 por apresentarem maior atividade que os demais em condição de temperatura baixa (20°C) e deficiência de oxigênio. Nestas condições, a atividade enzimática é reduzida para a maioria dos sistemas enzimáticos e o fato de GOT estar mais ativa nos genótipos BR IRGA 410, IRGA 416 e IRGA 417 pode indicar que estes se adaptam melhor aos estresses a que foram submetidos.

Independente do genótipo testado, foram observadas duas bandas para a isoenzima GOT, o

que coincide com os resultados dos zimogramas analisados por ROMERO *et al.* (1993), por outro lado, não concorda com os obtidos por BONOW (1999) que detectou 3 bandas de GOT nos genótipos por ele estudados.

Quanto a isoenzima EST, na temperatura de 20°C os genótipos reagiram de forma diferente à condição de anaerobiose, na qual as plântulas de El Paso 144, BR IRGA 409 e IRGA 417 apresentaram maior atividade que os demais genótipos em todos os tratamentos aplicados, e as plântulas de Bluebelle menor atividade (Tabela 2). Na temperatura de 30°C verificou-se diferença significativa entre genótipos na presença de oxigênio, na qual as plântulas de Bluebelle, IRGA 417 e BR IRGA 409 apresentaram maior atividade, diferindo do El Paso 144 e do BR IRGA 410. Essa diferença não foi observada nas temperaturas mais baixas, de 20 e 25°C em aerobiose (Tabela 2).

Tabela 2. Densidade relativa da enzima esterase (EST) na parte aérea de plântulas de diferentes genótipos de arroz irrigado submetidos a condições específicas de temperatura em aerobiose e em anaerobiose. Pelotas, 2000.

Genótipos	20°C		25°C		30°C	
	Aeróbico	Anaeróbico	Aeróbico	Anaeróbico	Aeróbico	Anaeróbico
El paso 144	163,1 a	401,7 a	82,27 a	219,23 ab	99,23 b	275,77 b
BR IRGA 409	230,23 a	375 a	74,03 a	360,23 a	216 a	276,23 b
BR IRGA 410	112,13 a	217,7 b	91,7 a	207,13 ab	61,1 b	170,23 b
IRGA 416	99,6 a	249 b	82,13 a	97,07 b	160,07 ab	221,23 b
IRGA 417	194,23 a	335,3 a	132,23 a	275,23 ab	295,23 a	561 a
Bluebelle	197,43 a	10,8 c	92,03 a	292 ab	250,03 a	598 a
CV (%)	27,79	23,12	27,68	28,98	25,94	25,91

*Médias não seguidas pela mesma letra na vertical diferem estatisticamente em nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste de Newman-Keuls.

Destacam-se nessa avaliação os genótipos El Paso 144, BR IRGA 409 e IRGA 417, com uma zona de atividade mais intensa (composta pelas bandas 2 e 3) em condições de anaerobiose à temperatura de 20°C, que é maior que nos demais genótipos. O que pode indicar que essas plântulas tenham maior capacidade para hidrolisar ésteres em condição de estresse por frio e anaerobiose.

Nos tratamentos de 20°C foram observadas 6 bandas na ausência de oxigênio e 4 bandas na presença de oxigênio (Figuras 1 e 2). Quando a temperatura de crescimento das plântulas foi de 25°C em aerobiose e em anaerobiose foram observadas quatro bandas da EST nas plântulas de todos os

genótipos. ROMERO *et al.* (1993), observaram duas zonas de atividade nos zimogramas de EST, com algumas variações de mobilidade das bandas entre os genótipos. BONOW (1999) detectou 3 padrões diferentes de bandas nos genótipos estudados e cinco bandas nos genótipos El Paso 144, BR IRGA 409, BR IRGA 410, IRGA 416 e IRGA 417 em folhas de plântulas desenvolvidas em aerobiose na temperatura de 25°C. Essas diferenças talvez possam ser em parte explicadas pelas diferentes regiões da planta que foram analisadas. Neste trabalho foi utilizada toda a parte aérea para a extração das proteínas. BONOW (1999), por sua vez, utilizou o terço médio das folhas para as análises.

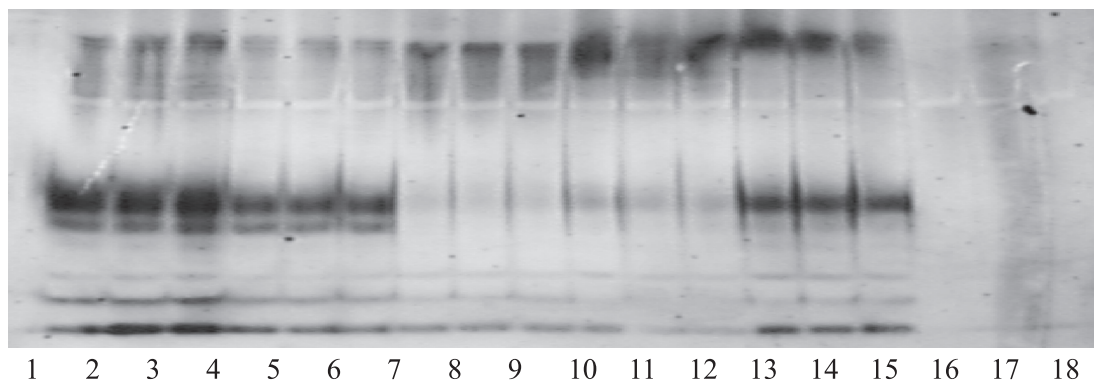


Figura 1. Zimograma de esterase obtido a partir da parte aérea de plântulas de arroz irrigado desenvolvidas em anaerobiose com temperatura de 20°C. Amostras 1 a 3 correspondem ao genótipo El Paso 144; 4 a 6 ao BR IRGA 409; 7 a 9 ao BR IRGA 410; 10 a 12 ao IRGA 416; 13 a 15 ao IRGA 417 e 16 a 18 ao Bluebelle.

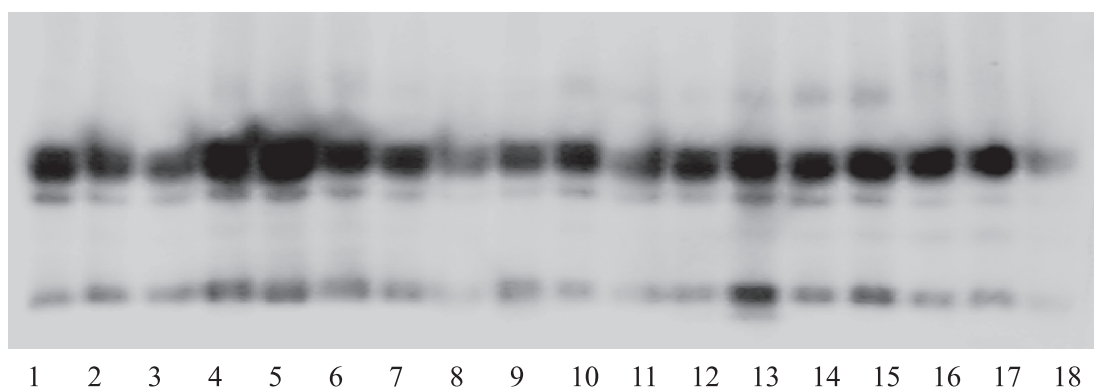


Figura 2. Zimograma de esterase obtido a partir da parte aérea de plântulas de arroz irrigado desenvolvidas em aerobiose com temperatura de 20°C. Amostras 1 a 3 correspondem ao genótipo El Paso 144; 4 a 6 ao BR IRGA 409; 7 a 9 ao BR IRGA 410; 10 a 12 ao IRGA 416; 13 a 15 ao IRGA 417 e 16 a 18 ao Bluebelle.

A expressão da enzima EST parece estar bastante relacionada com a região da planta que é analisada e com as condições ambientais de desenvolvimento das plantas, pois há informações diferentes no que se refere ao número de bandas desta enzima (ROMERO *et al.*, 1993; BONOW, 1999). Na Tabela 2 se observa que a expressão da enzima EST é maior na condição anaeróbica se comparada à condição aeróbica de desenvolvimento das plântulas do mesmo genótipo, indicando que as plantas de arroz têm condições de expressar novos gens da enzima dependendo da condição ambiental, como resposta a um estresse. Se esta hipótese é verdadeira, a planta busca com a expressão de novos gens de EST aumentar sua capacidade de metabolizar lipídios em condições de redução da disponibilidade de oxigênio, ao contrário da enzima GOT que tem sua expressão disminu-

ída em anaerobiose (Tabela 1).

Com relação às zonas de atividade no zimograma de MDH, todos os genótipos em todos os tratamentos apresentaram 2 bandas, diferente do que foi observado por ROMERO *et al.* (1993), que encontrou 3 zonas de atividade para essa enzima o que, segundo esses autores, reflete a divergência dos genomas estudados para esse sistema de enzimas.

A tabela 3 mostra a maior atividade da enzima malato desidrogenase em plântulas de BR IRGA 417 quando crescidas em ambiente com temperatura de 20°C e em anaerobiose. Esta é uma característica desejável quando se busca genótipos para semeadura no sistema pré-germinado em períodos de temperaturas em torno de 20° C como ocorre em grande parte da região orizícola do Estado do Rio Grande do Sul.

Tabela 3. Densidade relativa da enzima malato desidrogenase (MDH) na parte aérea de plântulas de diferentes genótipos de arroz irrigado submetidos a condições específicas de temperatura em aerobiose e em anaerobiose. Pelotas, 2000.

Genótipos	20°C		25°C		30°C	
	Aeróbico	Anaeróbico	Aeróbico	Anaeróbico	Aeróbico	Anaeróbico
El paso 144	128,13 a	306,23 b	259,13 b	2240 bc	216,1 a	682,1 ab
BR IRGA 409	136,27 a	410 b	508 b	3833,1 a	228 a	1007,1 a
BR IRGA 410	139,1 a	561,77 b	410,1 b	638,23 c	195,1 a	475 b
IRGA 416	151,77 a	479,1 b	331 b	416,1 c	239 a	317,23 b
IRGA 417	137,1 a	864,1 a	500,1 b	2233,1 b	190,1 a	820,23 a
Bluebelle	218 a	24,9 c	1575,53 a	1774 bc	87,03 b	1463,23 a
CV (%)	34,83	16,43	21,92	24,42	15,19	28,94

*Médias não seguidas pela mesma letra na vertical diferem estatisticamente em nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste de Newman-Keuls.

CONCLUSÕES

As plântulas de IRGA 417 destacam-se das demais por apresentarem maior atividade das enzimas estudadas no tratamento anaeróbico com temperatura de 20 °C.

A grande variabilidade das isoenzimas específicas em diferentes genótipos permite recomendar que os estudos de interação genótipo x ambiente utilizem sistemas bioquímicos para auxiliar na identificação de genótipos capazes de superar estresses ambientais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A.C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins**. Viçosa: UFV, 1998. 574p.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: Physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum, 1994. 445 p.
- BONOW, S. **Caracterização e análise de pureza varietal em genótipos de *Oryza sativa* L. através de isoenzimas**. Pelotas, 1999. 44 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Sementes) – Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas, 1999.
- CONTREIRAS, J. **Fisiologia e bioquímica da respiração das plantas superiores**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1992. 312 p.
- COUÉE, I.; DEFONTAINE, S.; CARDE, J.P.; *et al.* Effect of anoxia on mitochondrial biogenesis in rice shoots. Modification of *in organello* translation characteristics. *Plant Physiology*, 98, p. 411-421. 1992.
- CRUZ, R.P. da; MILACH, S.C.K. Avaliação de genótipos de arroz quanto à tolerância ao frio na germinação. In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 23., 1999, Pelotas, RS. **Anais...** Pelotas: UFPel, 1999. p.42-43.
- FOX, T.C.; KENNEDY, R.A.; RUMPHO, M.E. Energetics of plant growth under anoxia: metabolic adaptations of *Oryza sativa* and *Echinochloa phyllopogon*. **Annals of Botany**, n. 74, p. 445-455, 1991.
- GUGLIELMINETTI, L.; PERATA, P.; ALPI, A. Effect of anoxia on carbohydrate metabolism in rice seedlings. **Plant Physiology**, n. 108, p.735-741, 1995.
- HOSSAIN M. A.; HUQ, E.; GROVER, A. *et al.* Characterization of pyruvate decarboxylase genes from rice. **Plant Molecular Biology**, n. 31, p. 761-770, 1996.
- IRGA. Instituto Riograndense do Arroz. **Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre, v.51, p.14-15, 2000.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo: SARVIER, 1995. 839 p.
- MACKILL, D.J.; LEI, X. Genetic variation for traits related to temperature adaptation of rice cultivars. **Crop Science**, v.37, p.1340-1346. 1997.
- MEDIA CYBERNETICS. Gel – Pro Analyser Version 3.0 for Windows User's Guide. Silver Spring, Media Cybernetics, L. P., 1997.
- NAKAZONO, M.; TSUJI, H.; LI, Y.; SAISHO, D.; *et al.* A. Expression of a gene encoding mitochondrial aldehyde dehydrogenase in rice increases under submerged conditions. **Plant Physiology**, n. 124, p. 587-598, 2000.
- PERATA, P.; ALPI, A. Plant responses to anaerobiosis. **Plant Science**, n. 93, p.1-17, 1993.
- RICARD, B.; COUÉE, I.; RAYMOND, P.; *et al.* Plant metabolism under hypoxia and anoxia. *Plant Physiol Biochem*. n. 32, p. 1-10, 1994.
- RIVOAL, J.; THIND, S.; PRADET, A., *et al.* Differential induction of pyruvate decarboxylase subunits and transcripts in anoxic rice seedlings. **Plant Physiology**, n. 114, p.1021-1029, 1997.
- ROMERO, G.O.; AMANTE-BORDEOS, A.D.; DALMACIO, R.D.; *et al.* Comparative studies of isozymes

in *Oryza sativa*, *O. minuta*, and their interespecific derivatives: evidence for homoeology and recombination. **Theoretical and Applied Genetics**, n. 87, p.609-615, 1993.

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: StatSoft, 1996.

STRYER, L. Bioquímica. 4. ed. New York: Guanabara Koogan, 1996. 1000p.

TAIZ, L.; ZIEGER, E. Plant physiology. 2. ed. Redwood City: The Benjamin/Cummings, 1991. 565 p.

XIE, Y; WU, R. Rice alcohol dehydrogenase genes: anaerobic induction, organ specific expression and characterization of cDNA clones. **Plant Molecular Biology**, n. 13, p. 53-68, 1989.