

foi menor em *O. hexasperma* do que em *P. pubescens*. A atividade da NR variou de 0,2 a 2,3 nmoles NO_2^- (mg peso seco) $^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ nos 30 indivíduos de *P. pubescens*.

122 RELAÇÃO ENTRE ASNase E MORFOLOGIA FOLIAR PARA ESPÉCIES DO GÊNERO *Crotalaria*

Angela Pierre Vitoria¹, Leandro Ferreira Aguiar¹ & Ladslav Sodek
Instituto de Biologia, Departamento de Fisiologia Vegetal, UNICAMP, CP 6109, CEP 13081-970, Campinas, SP, Brasil.

Foi realizado um estudo da enzima ASNase (asparaginase), um dos principais compostos nitrogenados de leguminosas encontrados no sistema de transporte da planta, transformando-o em ASP (aspartato) e NH_4^+ (amônia). A enzima se encontra com maior atividade nos locais onde há grande necessidade de síntese proteica, geralmente nos tecidos em desenvolvimento. No presente trabalho, a enzima foi estudada em sementes imaturas na fase inicial de desenvolvimento, antes da formação dos cotilédones. É nesta fase que a enzima apresenta maior atividade. As duas formas de ASNase já foram encontradas em leguminosas, nunca ocorrendo juntas numa mesma espécie. A maioria dos dados obtidos para esta enzima foram para leguminosas temperadas, como por exemplo *Lupinus* e *Pisum*, sendo mínimas as informações para leguminosas tropicais. Para as espécies estudadas do gênero *Crotalaria*, as duas formas enzimáticas foram encontradas. Apesar da ocorrência de espécies com ASNase dependente de K^+ ser numerosa, a forma independente do íon foi a mais frequente. Na literatura, exemplos de espécies com a enzima independente do K^+ são muito esporádicos. Foi observado que todas as espécies com folhas trifolioladas apresentaram a ASNase independente do íon K^+ e todas as espécies unifolioladas tem como forma enzimática a ASNase dependente de K^+ . Com base nestes dados sugerimos que exista uma relação quimiotáxonômica para as espécies do gênero *Crotalaria*.

1- Bolsista da CAPES

123 CARACTERIZAÇÃO DOS SÍTIOS DE ATIVIDADE DA REDUTASE DO NITRATO EM PLANTAS DE SERINGUEIRA E OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO "IN VIVO"

Nelson Dolú Filho², Luiz Edson Mota de Oliveira² & José Donizeti Alves² - CP 37, 37200-000, Lavras - MG.

Este trabalho faz parte de um programa de pesquisa que visa o desenvolvimento de tecnologia para a produção de mudas, de cultivos e de exploração da seringueira nas condições edafoclimáticas do sul de Minas Gerais. Teve como objetivo identificar os sítios de redução do nitrato em seringueira e otimizar as condições de ensaio "in vivo" da enzima redutase do nitrato. Para isso utilizou-se plantas obtidas de sementes clonais legítimas de RRIM 600, germinadas em canteiros de areia e que foram transplantadas para vasos plásticos de 3,0 l contendo areia lavada. As plantas foram irrigadas com solução nutritiva de Bolle-Jones modificada, pH 6,5. Inicialmente, detectou-se através do ensaio "in vivo" da atividade da redutase do nitrato (aRN), que este ânion era reduzido somente nas raízes. Posteriormente, procurou-se otimizar as condições de ensaio com relação a pH, tempo de reação, temperatura e concentração do substrato. As maiores atividades da enzima foram obtidas em pH entre 7,0 e 8,0 e temperatura de 30°C. Para a concentração do nitrato no meio de incubação, ao contrário do modelo cinético de Michaelis-Menten, a aRN em 2,5 mM foi maior que em 5 e 10 mM. Entretanto, a partir de 5mM a aRN aumentou até 400mM. A redução do nitrato aumentou com o tempo até 3,0 horas de reação.

1- Financiado pelo CNPq e Convênio CEMIG/ESAL/FAEPE

124 ATIVIDADE DA REDUTASE DE NITRATO "in vivo" EM FOLHAS E RAÍZES DE DUAS ESPÉCIES FLORESTAIS DA AMAZONIA

Sonia HolenA Monteiro dos Santos¹, Geraldo Aclecio Melo¹, Angela Maria Soares¹ & Luiz Edson Mota de Oliveira¹ - 1 Departamento de Biologia/ESAL, 37200-000, Lavras - MG, Brasil.

O conhecimento sobre a atividade da redutase de nitrato no freijó-cinza (*Cordia goeldiana* Huber) e sumaúma (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.) é importante para avaliar o comportamento dessas espécies, principalmente quando submetidas a diferentes condições edafoclimáticas. Os atuais estudos sobre essas espécies restringem-se à sua silvicultura, sem levar em consideração aspectos metabólicos. Neste estudo identificou-se os sítios de assimilação do nitrato em plantas jovens de sumaúma e freijó-cinza, a fim de obter informações capazes de contribuir para determinação das condições mais adequadas de ensaio da enzima nessas espécies. A atividade da redutase de nitrato foi determinada em folhas e raízes das duas espécies, ambas com 5 meses de idade. Dez dias antes do ensaio foram aplicados 100ml de solução, 61mM, de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ para indução da atividade da enzima. As plantas foram separadas em raízes e folhas, e cada parte foi reduzida a fragmentos de aproximadamente 3x3mm (folhas) e 3mm de comprimento (raízes) os quais foram imersos em água destilada.

Amostras de 500mg de raízes e folhas foram colocadas em recipientes contendo 5ml de meio de incubação, constituído de solução tampão fosfato, 0,1M, pH 7,5; KNO_3 , 100mM, e n-propanol 5%. Em seguida, c) conjunto contendo os tecidos foram submetidos à infiltração (à vácuo) do nitrato, por duas vezes durante 2 minutos. Posteriormente, os frascos foram colocados em banho-maria (32°C), no escuro e sob agitação. Determininou-se a atividade enzimática, pela quantificação colorimétrica do nitrato formado durante 1 hora de reação. A atividade foi detectada nas raízes e folhas para ambas as espécies, entretanto foi mais intensa nos tecidos foliares.

125 ACÚMULO DE ANTOCIANINA E VARIAÇÃO DA ATIVIDADE DE ENZIMAS DO METABOLISMO DE FENILPROPANOÍDES E FLAVONOÍDES EM CULTURA DE CÉLULAS DE CENOURA (*Daucus carota* L. ssp. *sativus*) INDUZIDAS POR LUZ ULTRA-VIOLETA.

Fernando Broetto¹ & Otto Jesu Crocorno² 1 Depto. Química, IB/UNESP, Botucatu - SP, 18.610, Brasil. 2 Centro de Biotecnologia Agrícola - CEBTEC/Depto. Química/ESALQ/USP, CP 9, Piracicaba - SP, 13.418-900, Brasil.

Com o objetivo de se estudar o acúmulo de antocianina e a atividade de enzimas do metabolismo de fenilpropanóides e flavonóides, células de cenoura em suspensão foram cultivadas em meio Murashige & Skoog (1962) líquido e incubadas em câmara escura (controle) e na presença de luz U.V. - A (315 - 420 nm). Após 0, 12, 18, 24, 36, 48 e 60 h de incubação, as células foram colhidas e processadas para obtenção do extrato bruto. Foram determinados as respostas da indução por U.V. das enzimas PAL (fenilalanina amônia-liase); CHI (chalconoisomerase) e CoA-ligase, além do teor relativo de antocianina, taxa de crescimento e teor de proteína. Os resultados obtidos permitiram concluir que o aumento da atividade das enzimas PAL, CHI, e CoA- ligase e o teor de antocianina foram fortemente induzidos pela luz U.V., dependente do tempo de incubação. Diferentemente, os parâmetros de crescimento analisados não se alteraram significativamente em resposta à luz U.V. Os resultados apresentados confirmam a capacidade de reação das células a um fator físico externo, a luz U.V., promovendo a ativação de enzimas envolvidas no metabolismo de flavonóides. KJHN e alií (1984) estudaram o fotocontrole da síntese de flavonóides em célula de salsa, concluindo que o aumento da atividade das enzimas envolvidas neste metabolismo está relacionado com a elevação da taxa de transcrição dos genes que as coordenam com a síntese "de novo" do mRNA. WELLMANN (1971), trabalhando com salsa, observou que o fotoreceptor (fitocromo) foi ativado quando as células foram postas à luz U.V. HRAZDINA (1982) argumenta que o acúmulo de antocianina, através da exposição à luz U.V., poderia ser o produto de uma resposta ao estresse pelo qual as células são submetidas. Baseado nestas observações, pode-se concluir que o metabolismo de flavonóides e as enzimas e produtos que o compõem, podem ser adotados como marcadores bioquímicos da capacidade de resposta das plantas a fatores estressantes.

126 ASPECTOS ECOLÓGICOS DA REDUTASE DE NITRATO EM *Croton urucurana* E *Aspidosperma polyneuron*

Maria A.J. Oliveira² & Aduacto B. Pereira Netto² - 2 Depto. Biol. Universidade Estadual de Maringá - PR, Av. Colombo, 3690, 87020- 900, Maringá, PR.

O método *in vivo* para a estimativa da atividade de redutase de nitrato (RN) em *Croton urucurana* e *Aspidosperma polyneuron* foi padronizado de acordo com o procedimento descrito por KLEPPER et al. (1976) e modificado por MEGURO & MAGALHAES (1983). Também foram estimadas as atividades da RN em tecido foliar e radicular, superficialmente esterilizadas ou não, bem como monitorados o curso diário da atividade da enzima e o efeito do alongamento sobre a assimilação do nitrato em *A. Polyneuron* e *C. Urucurana*. Para *Croton urucurana*, as folhas não esterilizadas apresentam maior atividade da enzima, quando comparada às folhas esterilizadas, para *A. polyneuron*, os valores encontrados para atividade da RN em folhas esterilizadas e em folhas não esterilizadas foram próximos. Para *A. polyneuron*, atividade da RN nas folhas foi maior, quando comparada às raízes. Ao longo de 12 horas de monitoramento, o maior valor para a atividade da RN em *A. polyneuron* foi encontrado às 13h; para *C. urucurana*, a atividade da RN apresentou dois picos de atividade máxima, tendo sido o primeiro observado às 11 h e o segundo às 15 h (Horário solar). *A. polygeuron* e *Croton urucurana*, submetidas a 7 dias de alagamento, sofreram redução na sua capacidade de assimilar o nitrato, tendo sido a recuperação mais rápida em *C. urucurana*, quando comparado à *A. polyneuron*.

1- Monografia de especialização em ecologia de água de M.A.J. OLIVEIRA.

127 TOLERÂNCIA À SALINIDADE EM FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)