

DISCRIMINAÇÃO DE CULTIVARES DE ARROZ PELAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, FISIOLÓGICAS OU QUÍMICAS DAS SEMENTES E PLÂNTULAS ⁽¹⁾

JOCELY ANDREUCETTI MAEDA ^(2,5), LUIZ D'ARTAGNAN DE ALMEIDA ^(2,5)
MARILENE IADEROZA ^(3,5) e CARLOS EDUARDO DE OLIVEIRA CAMARGO ^(4,5)

RESUMO

A necessidade da discriminação de cultivares de arroz determinou o estudo das características físicas, fisiológicas e químicas das sementes e plântulas. Selecionaram-se as técnicas pelos seguintes fatores: precisão, reprodutibilidade, simplicidade, rapidez e custo de execução. Todas as características morfofisiológicas das sementes e plântulas foram de grande utilidade na diferenciação dos cultivares; na maioria das vezes, o conjunto de diferentes características é que permitiu uma discriminação segura. A coloração pelo fenol e a técnica de eletroforese utilizadas não foram eficientes na discriminação dos cultivares.

Termos de indexação: arroz, *Oryza sativa* L., semente, plântula, cultivares, identificação.

ABSTRACT

RICE CULTIVARS DISCRIMINATION BY USING PHYSICAL, PHYSIOLOGICAL OR CHEMICAL CHARACTERISTICS OF SEEDS AND SEEDLINGS

The need of rice cultivars discrimination led to this study in which physical, physiological and chemical characteristics of seeds and seedlings were considered as distinguishing traits. The techniques were selected based on precision, reproducibility, simplicity, rapidity and execution's cost. All the physical and physiological characteristics of seeds and seedlings were useful; frequently, just one form of evaluation did not characterize a cultivar, but the combination of different characteristics made it possible allowing an accurate discrimination. The reaction to phenol, and the electrophoretic technique here utilized were not efficient in the cultivars discrimination.

Index terms: rice, *Oryza sativa* L., seed, seedling, cultivars, identification.

⁽¹⁾ Recebido para publicação em 6 de outubro de 1994 e aceito em 17 de fevereiro de 1995.

⁽²⁾ Seção de Sementes, Instituto Agrônomo (IAC), Caixa Postal 28, 13001-970 Campinas (SP).

⁽³⁾ Seção de Bioquímica, Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Caixa Postal 139, 13073-001 Campinas (SP).

⁽⁴⁾ Seção de Arroz e Cereais de Inverno, IAC.

⁽⁵⁾ Com bolsa de pesquisa do CNPq.

1. INTRODUÇÃO

O cultivo do arroz no Brasil é uma atividade exercida há vários anos e o número de cultivares em uso é muito grande, trazendo, como consequência, dificuldades na diferenciação das sementes, pela sua semelhança física.

A descrição dos novos cultivares lançados ao meio produtivo baseia-se, mais freqüentemente, nas características de produtividade, resistência a pragas e moléstias e tolerância a condições adversas de ambiente, do que nas características das sementes propriamente ditas. As sementes deveriam ser mais bem caracterizadas, pois, além de servir como veículo de perpetuação da espécie, é através delas que se expressa toda a potencialidade do novo cultivar. Além disso, os produtores de sementes necessitam informações claras e seguras acerca das características das sementes de cada cultivar, uma vez que são as responsáveis pela pureza varietal do material produzido.

Segundo Vieira (1981), a perda das características genéticas, ocasionada por misturas e contaminações dos cultivares de arroz atualmente em uso no País, sugere a necessidade de trabalhos de identificação e purificação varietal para formação de estoques de alta qualidade. Rosta (1975) chamou a atenção para o fato de que existem mais de 10.000 variedades de arroz, sendo a identificação e a determinação das diferenças entre elas extremamente difícil.

Camargo (1983) afirmou que a indústria brasileira de sementes se ressentia de uma descrição detalhada dos cultivares e linhagens promissoras. Camargo (1982), no seu estudo agrobotânico de cultivares de arroz, em diferentes épocas de semeadura, analisou 35 parâmetros em cada época de plantio, concluindo que os cultivares IAC-164 e IAC-165, por possuírem os mesmos caracteres de morfologia e de ciclo e serem idênticos em outros atributos, deveriam ser classificados como único cultivar comercial.

A utilização de métodos de campo para estudar a diferenciação entre cultivares e testar seus atributos é muito demorada e dependente das condições do ambiente externo. Atualmente, existem testes

de laboratório, os quais são bem mais rápidos e oferecem controle das condições onde são realizados: são capazes de promover a identificação de cultivares e devem, segundo Payne (1987), ser simples, rápidos, de baixo custo e reprodutíveis, como o teste de fenol para sementes de trigo.

A identificação pelo fenol é conseguida por meio de coloração no pericarpo da semente, provocada pela oxidação do fenol, o que possibilita a determinação de misturas em amostras de sementes.

Vanangamudi et al. (1988), após estudarem a reação de 85 variedades de arroz ao fenol, concluíram que esse teste pode ser usado como um método simples, rápido e barato para agrupar variedades de arroz. Da mesma forma, Jensen & Legaspi (1979) concluíram que o teste de fenol oferece perspectivas de ser usado como método suplementar, quando se avalia pureza varietal em arroz. Entretanto, os mesmos autores afirmaram que é muito importante realizar os testes a temperaturas semelhantes quando a intensidade da coloração é usada para diferenciar cultivares de arroz.

Outro teste bastante preciso e não muito demorado é o da eletroforese, um dos mais eficientes para a diferenciação de cultivares, segundo Payne (1987). A eletroforese, técnica utilizada para separação quantitativa dos componentes de uma mistura de várias espécies iônicas, é de grande importância no estudo das proteínas, que são polieletrólitos anfóteros, cujas cargas dependem do pH do meio em que se encontram. Isso significa que, a um pH determinado, cada proteína tem uma carga própria e, quando submetida a um campo elétrico, move-se na direção de um dos eletrodos segundo sua carga e tamanho. Para Larsen (1970), as proteínas, sobretudo a subclasse das "enzimas", estão entre os principais contribuintes de características estáveis de identificação. De acordo com Chauhan et al. (1985), os perfis eletroforéticos de proteínas revelam características da espécie; a presença, portanto, de uma proteína específica em um organismo deve estar sob controle genético.

A técnica de eletroforese para identificação de sementes vem ganhando popularidade e, segundo levantamentos bibliográficos, diversos autores

comprovaram sua eficiência em muitas espécies, como é o caso do arroz, estudado por Yan (1987): mostrou-se que a pureza genética de híbridos F₁ e de suas linhagens pode ser determinada pela presença ou pela ausência de oito ou nove bandas de atividade de esterase, partindo do embrião de uma simples semente. O autor considerou o método altamente sensível, confiável e fácil de operar.

Existem testes mais simples e menos dispendiosos, que podem ser utilizados em laboratório, na identificação de linhagens e cultivares, complementando testes mais complexos. É o caso da análise de comprimento, largura e espessura das sementes. Podem-se ainda utilizar a coloração, o ângulo do ápice para certas espécies e as características das plântulas, como comprimento de parte aérea e/ou da raiz, bem como a massa fresca ou seca de tais plântulas.

Wiseman (1968) efetuou medições de comprimento e largura de sementes, em conjunto com o teste de fenol, para identificar variedades de *Poa pratensis* L. Dhesi et al. (1969) utilizaram a coloração do coleóptilo, das raízes e das folhas para discriminar cultivares cujas plântulas se estavam desenvolvendo em um meio com deficiência de nutrientes. Em outro teste, utilizaram-se das respostas das plântulas ao ácido giberélico, em conjunto com o teste de fenol e a coloração do coleóptilo para separação de cultivares de trigo.

O teste de fluorescência também pode ser empregado em alguns casos, como no da separação das plântulas de cultivares de *Lolium multiflorum* das de *Lolium perenne*, pois as primeiras apresentam raízes fluorescentes quando submetidas à luz ultravioleta, ao passo que as outras não têm essa característica (Brasil, 1992).

Este trabalho objetivou oferecer subsídios aos estudos para identificação de sementes de cultivares de arroz, principalmente daqueles mais cultivados em São Paulo, tendo em vista que a ocorrência de misturas varietais pode comprometer a qualidade do lote de sementes. Para tanto, planejou-se o estudo considerando simplicidade, rapidez, custo e precisão dos testes, que envolvem aspectos físicos,

fisiológicos e bioquímicos das sementes e plântulas de sete cultivares de arroz.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Cultivares

Utilizaram-se cultivares recomendados, nos últimos anos, pela Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo.

As sementes de sequeiro e irrigado procederam, respectivamente, de culturas paulistas localizadas em São José do Rio Preto e Taubaté, produzidas na safra 1989/90.

A seguir, a relação dos cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) e sua respectiva genealogia:

Sequeiro:

1. IAC-47 - IAC-1246 x IAC-1391;
2. IAC-25 - Dourado Precoce x IAC-1246;
3. IAC-164 - Dourado Precoce x IAC-1246;
4. IAC-165 - Dourado Precoce x IAC-1246.

Irrigado:

1. IAC-4440 - CICA-4 F₁ (IR 665-23-3-1 TETEP CIAT(1976));
2. IAC-238 - P 3299-F₄-7-1 (5685//3250/IRAT 8);
3. IAC-242 - P 3299-F₄-33-2 (5685//3250/IRAT 8).

2.2 Características morfológicas das sementes

As medidas de comprimento, largura e espessura das sementes, com ou sem glumelas, foram tomadas, por meio de paquímetro, examinando-se quatro repetições de 25 sementes cada uma. Com o mesmo número de sementes e repetições, efetuaram-se, também, as observações referentes à incidência do ângulo e coloração do seu ápice. Avaliou-se a coloração das sementes inteiras (com glumelas), ou a cariopse nua, segundo Munsell Soil Color Charts (1954).

2.3 Massa de mil sementes

Estimou-se a massa fresca de mil sementes, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), ou seja, por meio de oito repetições de cem sementes cada uma. No caso da massa seca, chegou-se ao resultado final mediante amostras de quatro repetições de cem sementes submetidas à estufa a 105°C por 24 horas. Para a apresentação dos resultados, utilizou-se a massa de cem sementes.

2.4 Coloração pelo fenol

a) Embebição em água: colocaram-se quatro repetições de cem sementes inteiras em papel especial para germinação, umedecido em água destilada, enrolado e mantido a 32°C por 24 horas. A seguir, as sementes passaram rapidamente por papel substrato seco para eliminar o excesso de água;

b) Reação: depositaram-se as sementes em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, sobre dois papéis-filtro umedecidos com 3 ml de solução a 1% de fenol (C₆H₅OH) e conservados a 30°C por 24 horas (Association of Official Seed Analysts, 1988);

c) Coloração: os diversos graus de coloração adquiridos pelas sementes foram descritos e especificados de acordo com Munsell Soil Color Charts (1954).

2.5 Eletroforese

Extraíram-se as proteínas com solução de ácido acético 5 mol/L, contendo 10% de sacarose, com agitação por duas horas à temperatura ambiente. A mistura foi centrifugada a 10.000 rpm, por dez minutos, e o sobrenadante, utilizado para a eletroforese (Hussain et al., 1989).

Efetou-se a determinação da proteína pelo método de Lowry et al. (1951), usando soro albumina bovina como padrão.

Para a eletroforese, adotou-se a técnica de discos, seguindo o método proposto por Reisfeld et al. (1962), com gel de concentração 4%, e de separação 15%, preparados a partir de soluções estoque

de acrilamida e bisacrilamida, catalisados em tubos de 7,5 x 0,5 cm.

Desenvolveu-se a separação eletroforética pela aplicação de 20 µL do extrato (70-100 µg de proteína), utilizando, nos eletrodos, uma solução tampão β-alamina pH 4,5, aplicando uma corrente de 6 mA/tubo, até a migração do indicador verde-de-metila 0,05%. Após a eletroforese, os géis foram corados, por uma noite, com solução de "Comassie Blue".

Fez-se a descoloração por solução de metanol 5% e ácido acético 7,5%, e a varredura de cada gel em densitômetro Helena Quick Scan.

2.6 Velocidade de embebição

Quatro repetições de cem sementes de todos os cultivares foram colocadas em água destilada e pesadas em intervalos regulares; a última pesagem se deu após 96 horas. Calculou-se, em cada período, o ganho de água pela embebição.

2.7 Germinação e velocidade de germinação

Colocaram-se quatro repetições de cem sementes sobre papel-filtro umedecido ou com água destilada ou com solução de 500 mg/L de ácido giberélico, levando-as ao germinador à temperatura alternada de 20-30°C e avaliando-as aos quatro e oito dias após a semeadura, quanto ao número de plântulas normais. No caso de velocidade de germinação, realizaram-se as contagens diariamente, calculando-se o índice pela fórmula proposta por Maguire (1962).

2.8 Características das estruturas essenciais das plântulas

a) Solução normal de nutrientes

Sementes dos sete cultivares de arroz foram cuidadosamente lavadas com uma solução de hipoclorito de sódio a 10% e colocadas para germinar em caixas de Petri por 24 horas em germinador com temperatura de 20-30°C. A seguir, escolheram-se vinte sementes, pré-germinadas, de cada cultivar por repetição, colocando-as sobre telas de náilon em contacto com a solução nutritiva existente

em vasilhas plásticas de 8,30 L de capacidade, montando as quatro repetições por cultivar, distribuídas conforme sorteio.

A concentração da solução nutritiva foi a seguinte: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ $4 \cdot 10^{-3}$ mol/L; MgSO_4 $2 \cdot 10^{-3}$ mol/L; KNO_3 $4 \cdot 10^{-3}$ mol/L.; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ $435 \cdot 10^{-6}$ mol/L; KH_2PO_4 $5 \cdot 10^{-4}$ mol/L; MnSO_4 $2 \cdot 10^{-6}$ mol/L; CuSO_4 $3 \cdot 10^{-7}$ mol/L; ZnSO_4 $8 \cdot 10^{-7}$ mol/L; NaCl $3 \cdot 10^{-5}$ mol/L; Fe-CYDTA 10^{-5} mol/L; Na_2MoO_4 10^{-7} mol/L; H_3BO_3 10^{-7} mol/L. Estipulou-se o nível da solução na vasilha plástica de modo que tocasse a parte inferior da tela de náilon, visando manter as sementes sempre úmidas, para garantir às raízes em emergência pronto suprimento de nutrientes. O pH da solução foi previamente ajustado para 4,0 com H_2SO_4 (0,5 mol/L). A solução foi continuamente arejada, suas vasilhas plásticas, colocadas em banho-maria à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, e o experimento, mantido sob luz artificial em toda a duração.

Executaram-se as medições de parte aérea a cada 24 horas, no próprio local, sem retirada das plântulas, durante os nove dias.

Aos três, cinco, sete e nove dias da semeadura, retiraram-se amostras, representadas por cinco plântulas de cada repetição, levando-as ao laboratório para medições individuais mais precisas do comprimento da primeira folha. Efetuaram-se, também, as seguintes avaliações: comprimento do coleóptilo e da raiz, e massa fresca e seca de plântulas. O valor de cada repetição para análise estatística foi, portanto, a média das medições individuais das vinte plântulas.

b) Solução com deficiência de nutrientes

Colocaram-se as sementes pré-germinadas sobre tela de náilon; desta vez, porém, em solução nutritiva representada por 10% da solução completa, e efetuaram-se todas as avaliações de maneira idêntica à anterior.

2.9 Análise estatística

O delineamento estatístico utilizado foi o completamente casualizado. Os dados em porcentagens foram transformados em arco seno $(x/100)^{1/2}$.

Quando o teste F deu significativo, fez-se a comparação entre médias pelo teste de Tukey a 5% de significância (Pimentel Gomes, 1970).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Características das sementes

Quando se avaliou a semente inteira de arroz, os fatores comprimento, largura e massa fresca de cem sementes permitiram ótima discriminação entre os cultivares, classificando-os em cinco grupos estatisticamente diferentes (Quadro 1).

Desconsiderou-se a classificação apontada pela massa fresca de cem sementes ao avaliar a massa seca, ou seja, o 'IAC-47', que apresentou sementes significativamente mais pesadas que 'IAC-165' e 'IAC-238', estava, na realidade, com maior teor de água, pois, quando todos estavam desidratados, não houve diferenças entre suas massas. Dessa maneira, a massa das sementes permitiu agrupar os cultivares em quatro níveis distintos, assim como o fator espessura da semente. Embora a espessura possa parecer menos útil que o comprimento e a largura, pode-se considerá-la responsável pela definição de cultivares que, pelo comprimento ou largura, não puderam ser discriminados. Assim, 'IAC-25' e 'IAC-4440' apresentaram sementes de comprimento idêntico, de largura pouco diferente, bastante diferenciados, porém, ao se considerar a espessura das sementes.

De qualquer maneira, no trabalho de discriminação de cultivares, recomenda-se a utilização de mais de uma característica morfológica para maior segurança dos resultados.

No caso de sementes sem glumelas, houve diferenciação entre os cultivares, mas em menor intensidade, não sendo, portanto, bom parâmetro para utilização. Deve-se notar, ainda, quanto a comprimento e largura, que as medidas obtidas guardaram certa relação, ou seja, os cultivares com maiores comprimento e largura, quando com glumelas, foram os que apresentaram as maiores medidas em comparação aos sem glumelas.

De modo geral, os cultivares com sementes de maior comprimento mostraram também as menores

larguras, como 'IAC-238' e 'IAC-242', os quais podem ser classificados como grãos longos e finos. Já os cultivares IAC-47 e IAC-164 foram os que apresentaram os grãos mais largos e espessos, porém com comprimentos intermediários. O 'IAC-4440' mostrou as menores dimensões para os três fatores considerados. Os resultados para comprimento, largura e espessura indicaram que 'IAC-164' e 'IAC-165' são significativamente diferentes, contrariando os de Camargo (1982).

Quanto à massa fresca de sementes, pode-se verificar que houve também boa discriminação entre os cultivares avaliados, notando-se ainda que o 'IAC-164', de sementes mais espessas, apresentou a maior massa de cem sementes.

Com relação às outras características morfológicas, observou-se, também, a incidência do ângulo e a coloração do ápice da semente, bem como o aspecto da cariopse (semente desprovida das glumelas). Neste último caso, todos os cultivares se apresentaram com aspecto vítreo. Quanto à incidência do ângulo do ápice, mostraram ângulo reto, com exceção do 'IAC-25', com 70% das sementes com ângulo curvo e 30%, ângulo reto.

Na coloração do ápice das sementes, o 'IAC-47' foi discriminado nitidamente, uma vez que apresentou o ápice escuro e, todos os outros, ápice claro.

3.2 Coloração pelo fenol

Os resultados para coloração das sementes, com ou sem tratamento de fenol, permitiram verificar que a discriminação entre os cultivares não foi eficiente, principalmente sem o tratamento. Nesse caso, houve necessidade de observações muito acuradas para percepção de diferentes nuanças da tonalidade amarela entre os cultivares. Quando as sementes foram tratadas com a solução de fenol, ocorreu ligeiro escurecimento da tonalidade, possibilitando melhor discriminação: os cultivares IAC-238 e IAC-242 estavam bem mais escuros que os demais - Quadro 2. Apesar da melhoria de interpretação após tratamento com fenol, não se caracterizou a eficiência desse teste, por vários motivos: a definição da tonalidade é bastante subjetiva, a solução é cara, e sua manipulação expõe o laboratorista a problemas de saúde, uma vez que seu odor é pungente, irritante, causando sensibilidade da pele, com suspeitas de ação carcinogênica ao homem.

Quadro 1. Características de sementes de cultivares de arroz

| Cultivar | Com glumelas | | | | | Sem glumelas | |
|----------------|--------------|-----------|-----------|-----------------------------|---------------------------|--------------|----------|
| | Comprimento | Largura | Espessura | Massa fresca ⁽¹⁾ | Massa seca ⁽¹⁾ | Comprimento | Largura |
| | mm | | | g | | mm | |
| IAC-25 | 9,06e | 2,70d | 2,15b | 3,08d | 2,72c | 7,10bcd | 2,44b |
| IAC-47 | 9,35d | 3,17a | 2,20a | 3,44b | 3,02b | 6,96cd | 2,76a |
| IAC-164 | 9,70c | 3,04b | 2,24a | 3,68a | 3,24a | 7,44ab | 2,82a |
| IAC-165 | 9,41d | 2,91c | 2,14b | 3,36c | 2,97b | 7,31bc | 2,72a |
| IAC-238 | 10,52a | 2,72d | 2,15b | 3,34c | 2,95b | 7,77a | 2,40b |
| IAC-242 | 10,14b | 2,60e | 2,08c | 3,07d | 2,71c | 7,55ab | 2,33bc |
| IAC-4440 | 9,06e | 2,51e | 1,92d | 2,44e | 2,16d | 6,73d | 2,19c |
| F (Tratamento) | 82,924** | 147,867** | 154,894** | 577,176** | 480,839** | 13,687** | 53,740** |
| DMS (Tukey 5%) | 0,280 | 0,093 | 0,039 | 0,072 | 0,073 | 0,449 | 0,151 |
| CV (%) | 1,267 | 1,400 | 0,790 | 1,453 | 1,117 | 2,685 | 2,611 |

⁽¹⁾ Cem sementes avaliadas. Letras não comuns na coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ao nível de 5%. **: significativo ao nível de 1%.

Quadro 2. Diferenciação entre sementes de cultivares de arroz pela coloração natural e após o tratamento com fenol

| Cultivar | Coloração natural | Coloração após fenol |
|----------|-------------------|------------------------------|
| IAC-25 | 10YR 7/8 | 10YR 6/8 |
| IAC-47 | 2,5Y 8/6 | 2,5Y 7/4 |
| IAC-164 | 2,5Y 8/4 | 10YR 6/6 |
| IAC-165 | 2,5Y 8/4 | 10YR 7/8 |
| IAC-238 | 2,5Y 7/6 | 10YR 5/6 |
| IAC-242 | 2,5Y 7/6 | 10YR 3/2 50% 10YR 5/6 50% |
| IAC-4440 | 2,5Y 7/6 | 10YR 8/8 |

3.3 Eletroforese

Quando se comparou o perfil eletroforético dos sete cultivares, verificou-se-lhes certa semelhança quanto ao número e intensidade das bandas. Observou-se apenas a maior intensidade das bandas no 'IAC-164' (Figuras 1A, B, C e D - Figura 2 A, B e C), acompanhado muito de perto pelo 'IAC-25', e a presença de uma quarta banda de baixa intensidade no 'IAC-47', localizada bem próximo às bandas comuns em todos os cultivares; essa quarta banda também ocorreu de maneira ainda mais discreta no 'IAC-25'.

De qualquer maneira, a técnica eletroforética não permitiu a discriminação de nenhum cultivar de arroz em relação aos demais estudados. Essa constatação diferiu muito da resposta obtida com sementes de trigo: por meio da eletroforese, foi possível uma discriminação bastante segura dos cultivares (Maeda et al., 1995).

Supõe-se que a técnica utilizada neste trabalho possa ser aprimorada, ou diferenciada, para distinguir sementes de cultivares de arroz.

3.4 Velocidade de embebição

O teor de água das sementes não interferiu na sua velocidade de embebição, pois seus valores foram praticamente os mesmos em todos os cultivares (13,3% em média).

Os resultados para velocidade de embebição de sementes, dos diversos cultivares de arroz, encontram-se no quadro 3. A análise efetuada mostrou que, a partir de quatro horas de embebição, os cultivares foram divididos, no mínimo, em três níveis distintos quanto ao ganho de água, o que permitiu ótima diferenciação entre eles. Verificou-se ainda que, em média, os cultivares IAC-165, IAC-25 e IAC-164, foram os que apresentaram maior velocidade de embebição, enquanto 'IAC-242' e 'IAC-238' foram os de menor velocidade. Os outros dois cultivares formaram um bloco intermediário em termos de ganho de água.

3.5 Germinação e velocidade de germinação

Os cultivares avaliados neste estudo apresentaram, em sua maioria, valores excelentes de germinação, formando três grupos diferentes estatisticamente. O teste de velocidade de germinação também agrupou os sete cultivares em três classes, porém muito mais bem definidas. Assim, enquanto o teste de germinação considerou como iguais o 'IAC-25', 'IAC-164', 'IAC-165' e 'IAC-4440', o teste de velocidade de germinação distinguiu o 'IAC-25' como o melhor estatisticamente. Com relação à utilização da solução de ácido giberélico, não houve melhora na diferenciação entre os cultivares. Pelo contrário, as diferenças existentes foram menores, tornando-se desaconselhável sua aplicação com a finalidade de discriminá-los.

Resta salientar que, para utilizar o teste de germinação ou de velocidade de germinação para distinguir cultivares, é preciso muito cuidado com a produção da semente, que deve seguir procedimentos idênticos em todos os cultivares. Caso contrário, os resultados estarão refletindo as diferenças de vigor devidas aos sistemas de produção das sementes, e não as diferenças devidas às condições genéticas.

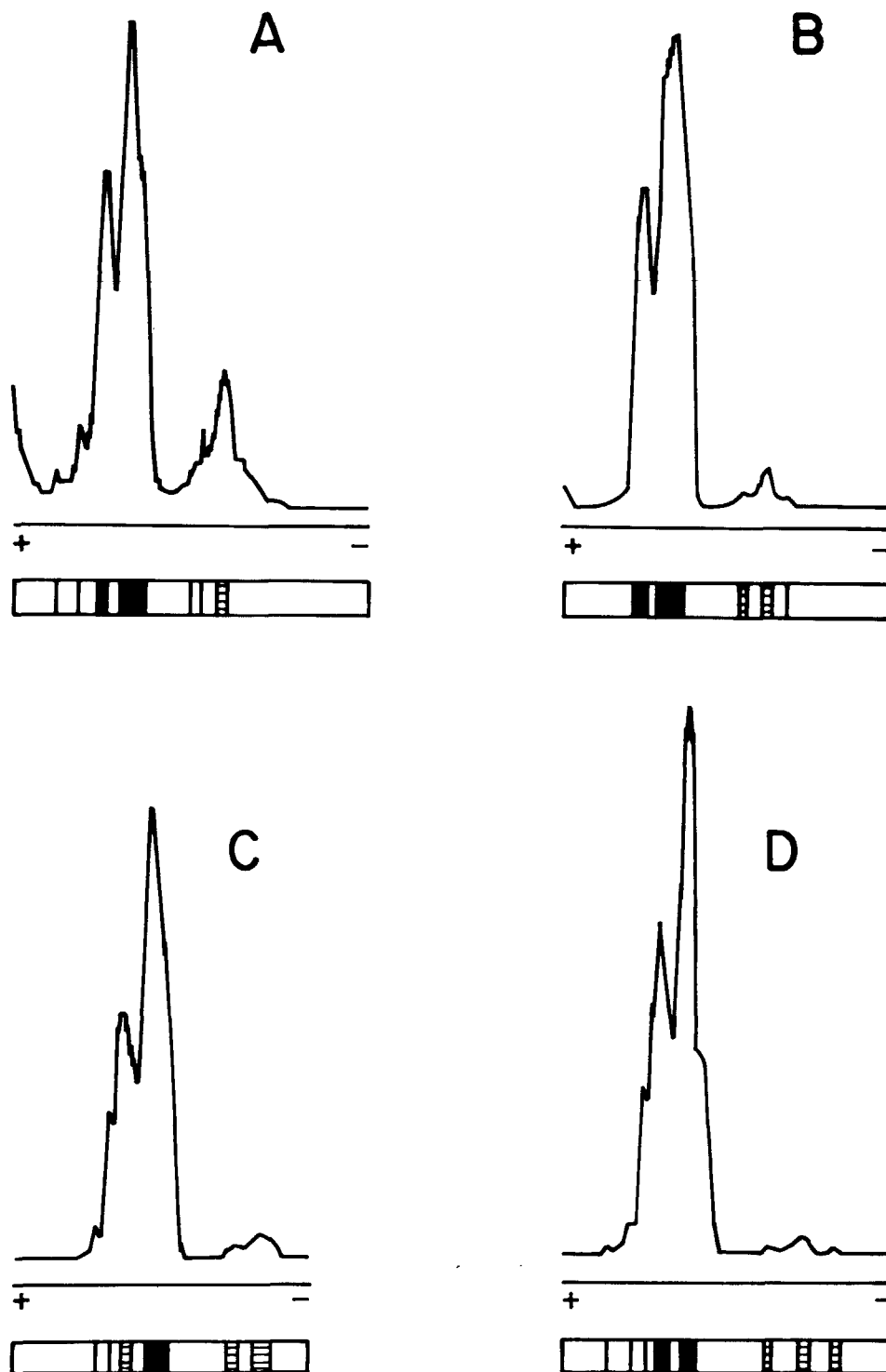


Figura 1. Perfis eletroforéticos e respectivos densitogramas de extratos protéicos dos diferentes cultivares de sementes de arroz. A: IAC-4440; B: IAC-242. C: IAC-165 e, D: IAC-164.

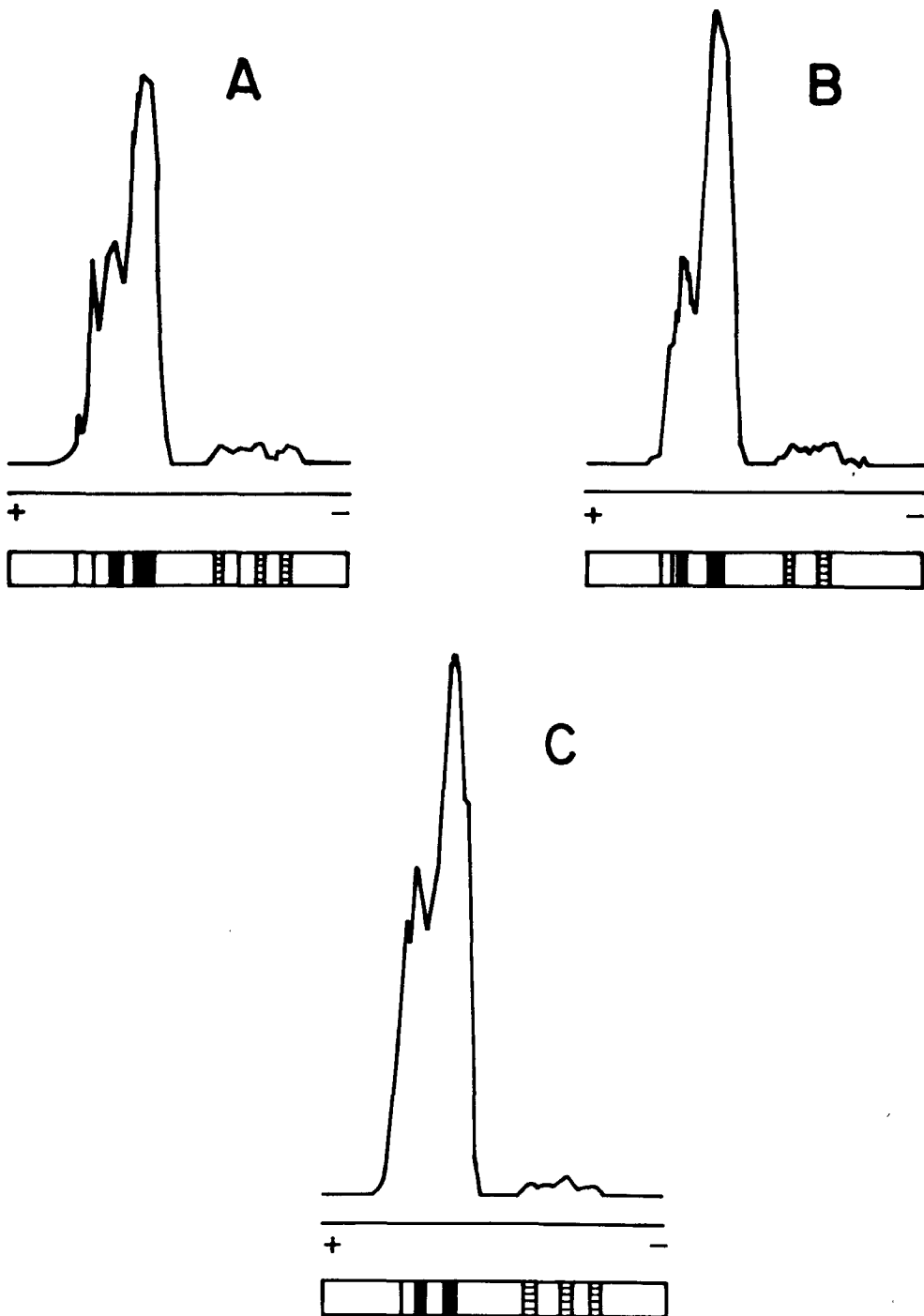


Figura 2. Perfis eletroforéticos e respectivos densitogramas de extratos protéicos dos diferentes cultivares de sementes de arroz. A: IAC-47; B: IAC-238 e, C: IAC-25.

3.6 Características das estruturas essenciais das plântulas

As medições diárias da parte aérea, feitas sem retirar as plântulas da solução, mostraram que, quando em solução normal (Figura 3), os cultivares IAC-238 e IAC-242 foram os que mantiveram os menores valores em termos de altura. Qualquer outra observação se tornou muito difícil, uma vez

que todos os cultivares seguiram o mesmo padrão de crescimento.

Quando se efetuaram as medições em solução com 10% de nutrientes (Figura 4), as diferenças encontradas foram ainda menores; as curvas se aproximaram ainda mais, percebendo-se apenas melhor resistência do 'IAC-4440' quando em solução com deficiência de nutrientes.

Quadro 3. Velocidade de embebição de sementes de diferentes cultivares de arroz

| Cultivar | Ganho de água (%) | | | | |
|---------------------------------|-------------------|---------|---------|---------|---------|
| | 2 h | 4 h | 6 h | 8 h | 16 h |
| IAC-25 | 9,6ab | 12,3bc | 14,7bc | 16,2b | 22,4a |
| IAC-47 | 8,0b | 10,9bc | 11,9d | 15,1bc | 18,4c |
| IAC-164 | 9,7ab | 12,8b | 15,2ab | 17,1ab | 22,1ab |
| IAC-165 | 11,4a | 15,1a | 17,4a | 19,9a | 22,1ab |
| IAC-238 | 8,3b | 10,3c | 11,9d | 13,3c | 19,5c |
| IAC-242 | 9,0b | 10,8bc | 13,0cd | 16,6b | 19,4c |
| IAC-4440 | 8,7b | 11,7bc | 13,5bcd | 15,7bc | 20,1bc |
| F (Tratamento) (¹) | 7,34** | 11,74** | 17,80** | 11,45** | 13,67** |
| DMS (Tukey 5%) | 1,90 | 1,90 | 1,78 | 2,14 | 1,42 |
| CV (%) | 4,67 | 4,08 | 3,53 | 3,91 | 2,30 |

| Cultivar | Ganho de água (%) | | | |
|---------------------------------|-------------------|---------|---------|---------|
| | 24 h | 48 h | 72 h | 96 h |
| IAC-25 | 26,6ab | 32,5a | 33,9a | 28,8b |
| IAC-47 | 22,0cd | 25,7cde | 25,5c | 35,6a |
| IAC-164 | 24,5bc | 27,6cd | 28,7bc | 29,9b |
| IAC-165 | 28,2a | 31,5ab | 32,8ab | 34,6a |
| IAC-238 | 19,6d | 23,9e | 25,0c | 25,5c |
| IAC-242 | 21,7cd | 25,4de | 26,1c | 27,2bc |
| IAC-4440 | 22,5c | 28,8bc | 26,0c | 28,2bc |
| F (Tratamento) (¹) | 21,44** | 20,49** | 12,52** | 29,08** |
| DMS (Tukey 5%) | 2,00 | 2,09 | 3,00 | 1,99 |
| CV (%) | 2,99 | 2,85 | 4,07 | 2,62 |

(¹) Os valores de F, DMS e CV e a comparação de médias são correspondentes aos valores transformados em arco seno $(x/100)^{1/2}$. Letras não comuns na coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ao nível de 5%. **: significativo ao nível de 1%.

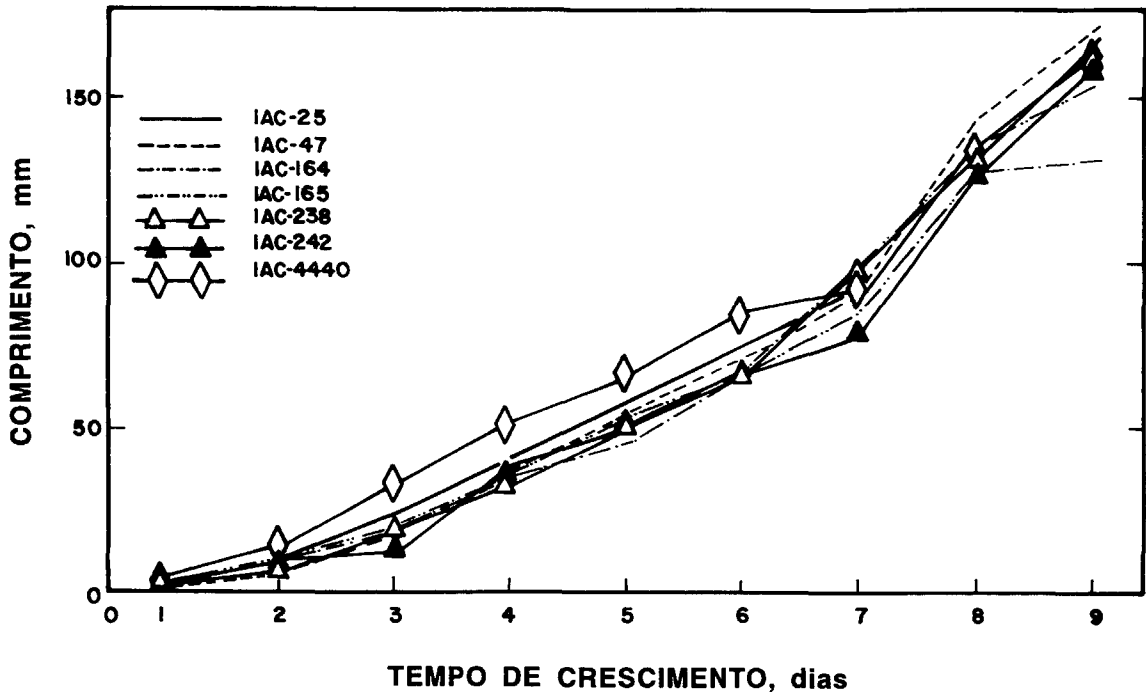


Figura 3. Crescimento de plântulas (parte aérea) de cultivares de arroz, desenvolvidas em solução normal de nutrientes.

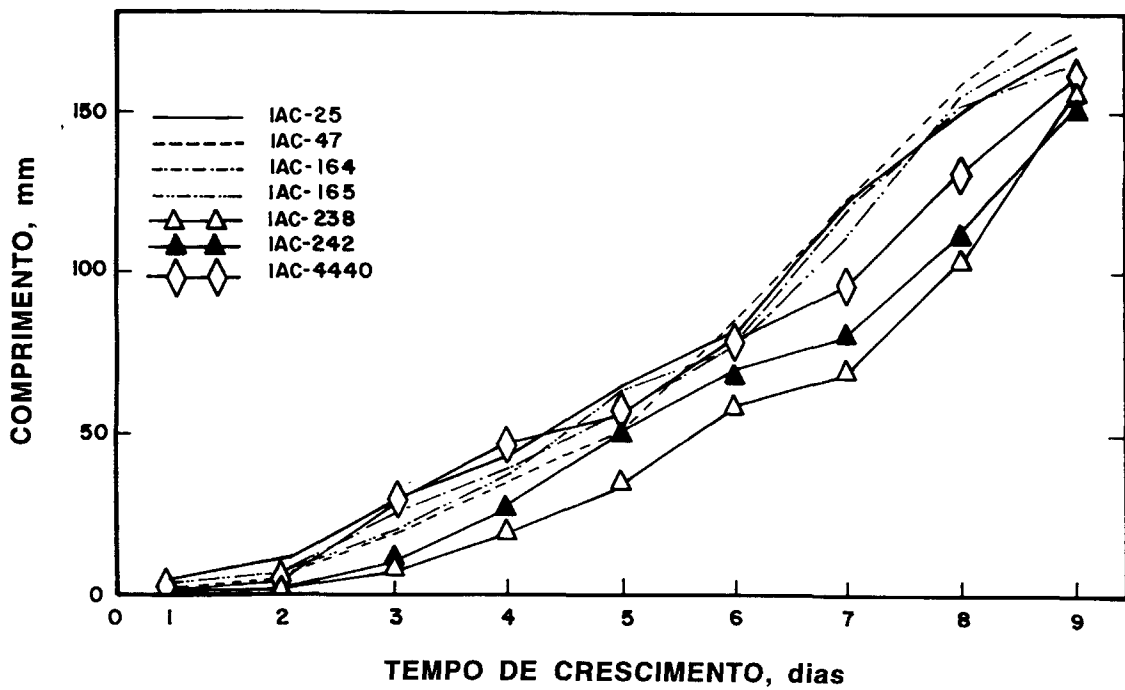


Figura 4. Crescimento de plântulas (parte aérea) de cultivares de arroz, desenvolvidas em solução com deficiência de nutrientes.

Observações mais exatas só foram possíveis quando se retiraram amostras de plântulas aos três, cinco, sete e nove dias, para avaliações individuais mais precisas em laboratório, não só do comprimento da primeira folha, mas também do comprimento da raiz, do coleóptilo e para determinação da massa fresca e da massa seca das 20 plantas em cada retirada, tanto a partir da solução normal como da solução 10% de nutrientes.

As avaliações do comprimento do coleóptilo, feitas em todas as retiradas, não permitiram diferenciar cultivar algum. Em solução normal, a média dos comprimentos foi de 3,84 mm, e em solução 10% de nutrientes, essa medida passou para 5,12 mm, no mesmo nível, porém, de significância para todos os cultivares. Sendo assim, esses resultados não constam nos quadros.

Os dados de massa fresca também não constam, pois permitiram tantas discriminações quantas resultaram da massa seca. Apresentaram-se apenas esses últimos dados que, seguramente, não

revelaram interferência devido ao teor de água do material.

As características de comprimento da primeira folha, comprimento da raiz e massa seca das plantas, tomadas aos três, cinco, sete e nove dias após a sementeira, em solução normal de nutrientes, encontram-se nos quadros 5 e 6.

Quando se avaliou o comprimento da primeira folha, a melhor discriminação foi conseguida aos sete dias da sementeira: o 'IAC-238' acusou os menores valores, sem diferir, porém, do 'IAC-242'. Esses resultados, com as plantas avaliadas individualmente, coincidiram com a avaliação feita em conjunto, diretamente na linha, sem a retirada das plântulas da solução (representada pela figura 3).

Quanto ao comprimento da raiz, as melhores discriminações foram conseguidas aos três e cinco dias, com os menores valores também para os cultivares IAC-238 e IAC-242, que aos três dias não diferiram do 'IAC-165' e, aos cinco dias, não diferiram do 'IAC-164' e 'IAC-4440'.

Quadro 4. Valores de germinação e velocidade de germinação em solução normal e solução contendo ácido giberélico

| Cultivar | Solução normal | | Solução com ácido giberélico | |
|---------------------------------|----------------|--------------------------|------------------------------|--------------------------|
| | Germinação | Velocidade de germinação | Germinação | Velocidade de germinação |
| | % | índice | % | índice |
| IAC-25 | 98,75a | 58,02a | 92,50a | 46,25a |
| IAC-47 | 87,50b | 41,92b | 88,75a | 41,50a |
| IAC-164 | 92,50ab | 45,25b | 82,50ab | 40,42a |
| IAC-165 | 90,00ab | 44,17b | 93,75a | 44,27a |
| IAC-238 | 61,25c | 21,08c | 62,50b | 22,13b |
| IAC-242 | 85,00b | 38,90b | 86,25ab | 40,25a |
| IAC-4440 | 95,00ab | 45,96b | 90,00a | 41,54a |
| F (Tratamento) (¹) | 9,37** | 49,79** | 3,95** | 18,19** |
| DMS (Tukey 5%) | 16,37 | 7,21 | 20,56 | 8,58 |
| CV (%) | 9,89 | 7,44 | 12,80 | 9,45 |

(¹) No caso de porcentagem, os valores de F, DMS e CV e a comparação de médias são correspondentes àqueles valores transformados em arco seno $(x/100)^{1/2}$. Letras não comuns na coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ao nível de 5%. **: significativo ao nível de 1%.

Quadro 5. Características das estruturas essenciais das plantas quando em solução normal de nutrientes

| Cultivar | 3 dias após a semeadura | | | 5 dias após a semeadura | | |
|----------------|--------------------------------------|---------------------|------------------------|--------------------------------------|---------------------|------------------------|
| | Comprimento da 1. ^a folha | Comprimento da raiz | Massa seca das plantas | Comprimento da 1. ^a folha | Comprimento da raiz | Massa seca das plantas |
| | mm | | g | mm | | g |
| IAC-25 | 29,83a | 38,21a | 0,16bc | 65,40a | 66,00ab | 0,23ab |
| IAC-47 | 20,33abc | 30,42ab | 0,16bc | 57,71a | 68,82a | 0,29a |
| IAC-164 | 26,50ab | 31,67a | 0,18ab | 58,55a | 54,30abc | 0,29a |
| IAC-165 | 19,83abc | 24,00abc | 0,17abc | 54,30a | 63,55ab | 0,25ab |
| IAC-238 | 9,13c | 13,00c | 0,22a | 44,80a | 41,74c | 0,27ab |
| IAC-242 | 16,46bc | 14,17bc | 0,17abc | 51,33a | 41,97c | 0,29a |
| IAC-4440 | 28,67a | 39,17a | 0,12c | 56,85a | 50,15bc | 0,21b |
| F (Tratamento) | 8,50** | 8,50** | 6,05** | 1,84ns | 10,12** | 4,28** |
| DMS (Tukey 5%) | 11,67 | 16,75 | 0,06 | 21,79 | 16,22 | 0,07 |
| CV (%) | 23,57 | 26,74 | 15,50 | 17,05 | 12,77 | 11,57 |

Letras não comuns na coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ao nível de 5%. **: significativo ao nível de 1%; ns: não significativo.

Quadro 6. Características das estruturas essenciais das plantas quando em solução normal de nutrientes

| Cultivar | 7 dias após a semeadura | | | 9 dias após a semeadura | | |
|----------------|--------------------------------------|---------------------|------------------------|--------------------------------------|---------------------|------------------------|
| | Comprimento da 1. ^a folha | Comprimento da raiz | Massa seca das plantas | Comprimento da 1. ^a folha | Comprimento da raiz | Massa seca das plantas |
| | mm | | g | mm | | g |
| IAC-25 | 110,55ab | 89,35ab | 0,22bc | 172,10a | 97,88a | 0,20cd |
| IAC-47 | 128,23a | 95,10a | 0,27a | 191,57a | 107,65a | 0,25ab |
| IAC-164 | 120,26ab | 78,75ab | 0,27a | 166,23a | 81,57a | 0,24ab |
| IAC-165 | 118,32ab | 85,53ab | 0,25ab | 176,46a | 84,46a | 0,21bc |
| IAC-238 | 69,71d | 79,08ab | 0,27a | 158,94a | 94,73a | 0,26a |
| IAC-242 | 80,63cd | 63,29b | 0,25ab | 154,13a | 92,93a | 0,23ab |
| IAC-4440 | 96,38bc | 67,96ab | 0,19c | 161,80a | 83,60a | 0,17d |
| F (Tratamento) | 17,77** | 3,08* | 13,16** | 1,24ns | 2,18ns | 9,23** |
| DMS (Tukey 5%) | 23,90 | 29,73 | 0,04 | 52,13 | 29,12 | 0,04 |
| CV (%) | 10,05 | 16,19 | 6,73 | 13,43 | 13,79 | 8,59 |

Letras não comuns na coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ao nível de 5%. *, **: significativo, respectivamente, ao nível de 5 e 1%; ns: não significativo.

Quadro 7. Características das estruturas essenciais das plantas quando em solução de 10% de nutrientes

| Cultivar | 3 dias após a semeadura | | | 5 dias após a semeadura | | |
|----------------|--------------------------------------|---------------------|------------------------|--------------------------------------|---------------------|------------------------|
| | Comprimento da 1. ^a folha | Comprimento da raiz | Massa seca das plantas | Comprimento da 1. ^a folha | Comprimento da raiz | Massa seca das plantas |
| | mm | | g | mm | | g |
| IAC-25 | 23,90ab | 29,75b | 0,26b | 57,55ab | 62,60ab | 0,23bc |
| IAC-47 | 18,80b | 26,45bc | 0,31ab | 54,18bc | 63,45a | 0,29a |
| IAC-64 | 17,60b | 19,30cd | 0,33a | 45,60c | 52,81bc | 0,29a |
| IAC-165 | 20,95b | 23,50bcd | 0,29ab | 53,40bc | 59,55ab | 0,26ab |
| IAC-238 | 20,13b | 17,55d | 0,29ab | 51,05bc | 43,55c | 0,27ab |
| IAC-242 | 22,75ab | 21,00cd | 0,27b | 52,40bc | 43,45c | 0,24b |
| IAC-4440 | 32,85a | 38,35a | 0,19c | 66,30a | 63,80a | 0,19c |
| F (Tratamento) | 4,58** | 18,41** | 21,69** | 6,66** | 15,78** | 19,24** |
| DMS (Tukey 5%) | 10,92 | 7,69 | 0,05 | 11,39 | 10,52 | 0,04 |
| CV (%) | 21,17 | 13,31 | 7,18 | 9,11 | 8,23 | 6,67 |

Letras não comuns na coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ao nível de 5%. **: significativo ao nível de 1%.

Quadro 8. Características das estruturas essenciais das plantas quando em solução de 10% de nutrientes

| Cultivar | 7 dias após a semeadura | | | 9 dias após a semeadura | | |
|----------------|--------------------------------------|---------------------|------------------------|--------------------------------------|---------------------|------------------------|
| | Comprimento da 1. ^a folha | Comprimento da raiz | Massa seca das plantas | Comprimento da 1. ^a folha | Comprimento da raiz | Massa seca das plantas |
| | mm | | g | mm | | g |
| IAC-25 | 91,85a | 86,03a | 0,23b | 161,60a | 97,80ab | 0,19b |
| IAC-47 | 90,85a | 83,00ab | 0,26a | 170,30a | 111,14a | 0,21ab |
| IAC-164 | 84,85a | 74,88abc | 0,26a | 130,80a | 89,85b | 0,20ab |
| IAC-165 | 97,80a | 88,27a | 0,25a | 154,45a | 94,47ab | 0,20ab |
| IAC-238 | 96,60a | 64,72bc | 0,26a | 163,12a | 86,77b | 0,23a |
| IAC-242 | 78,75a | 62,78c | 0,23b | 160,45a | 85,97b | 0,19b |
| IAC-4440 | 92,60a | 81,63ab | 0,18c | 162,63a | 92,95b | 0,15c |
| F (Tratamento) | 1,33ns | 6,22** | 33,59** | 1,32ns | 4,83** | 16,00** |
| DMS (Tukey 5%) | 26,57 | 18,79 | 0,02 | 59,91 | 17,98 | 0,03 |
| CV (%) | 12,77 | 10,57 | 4,18 | 14,04 | 8,31 | 6,17 |

Letras não comuns na coluna indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ao nível de 5%. **: significativo ao nível de 1%; ns: não significativo.

A massa seca das plantas não constituiu bom parâmetro para distinguir os cultivares; as melhores observações só foram conseguidas aos sete e nove dias. Aos sete dias, os cultivares IAC-25 e IAC-4440 apresentaram os menores valores, e aos nove dias houve novamente essa constatação, porém sem diferenças estatísticas em relação ao 'IAC-165'.

Avaliaram-se as mesmas características nas plântulas que se desenvolveram em solução de 10% de nutrientes. Esses dados constam dos quadros 7 e 8.

O comprimento da primeira folha permitiu distinguir, aos três dias, o cultivar IAC-4440, cujos valores foram maiores, não diferindo, estatisticamente, porém, de 'IAC-25' e 'IAC-242'. Aos cinco dias, tal observação foi confirmada, apenas sem diferir do 'IAC-25'. A partir de cinco dias, essa avaliação não mais conseguiu diferenciar os cultivares.

Quando avaliados pelo comprimento da raiz, eles foram mais bem discriminados aos três dias: o 'IAC-4440' apresentou o maior valor, distinto de todos os demais.

A massa seca das plantas permitiu uma constatação bastante interessante em relação ao 'IAC-4440', que demonstrou maiores comprimentos de primeira folha e de raiz, porém menor massa seca, o que significa menor quantidade de massa vegetal.

Embora algumas avaliações testadas tenham permitido boa discriminação dos cultivares de arroz, recomenda-se utilizar mais de uma técnica que tenha proporcionado bons resultados, para segurança da identificação do cultivar e eliminação do fator vigor da semente, possivelmente ocasionado pelo sistema de produção do cultivar em questão.

4. CONCLUSÕES

1. As características morfológicas das sementes representaram boa ferramenta na discriminação de cultivares de arroz.

2. A coloração pelo fenol não constituiu método eficiente para identificar cultivares.

3. A análise do perfil eletroforético não permitiu a diferenciação de nenhum cultivar. Todos os perfis foram semelhantes.

4. A velocidade de embebição possibilitou ótima diferenciação entre os cultivares.

5. O teste de velocidade de germinação permitiu a discriminação de alguns cultivares de arroz.

6. A medição do comprimento da primeira folha permitiu ótima discriminação dos cultivares IAC-238 e IAC-242 (os menores valores) desenvolvidos em solução normal de nutrientes.

7. A medição do comprimento da raiz permitiu ótima discriminação do 'IAC-4440' (os maiores valores), quando a avaliação foi tomada aos três dias, desenvolvendo-se em solução com deficiência de nutrientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. Cultivar purity testing handbook. *The News Letter of the Association of Official Seed Analysts*, Lincoln, 62(3):1-89, 1988.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Divisão de Sementes e Mudanças. *Regras para Análise de Sementes*. Brasília, 1992. 365p.
- CAMARGO, C.P. Sementes de arroz de sequeiro no Brasil: produção, comercialização e distribuição. In: FERREIRA, M.E., YAMADA, T. & MALAVOLTA, E., eds. *Cultura do arroz de sequeiro: fatores afetando a produtividade*. Piracicaba, Instituto de Potassa & Fosfato/Instituto Internacional da Potassa, 1983. p.35-55.
- CAMARGO, O.B.A. *Estudo agrobotânico de cultivares de arroz (Oryza sativa L.), em diferentes épocas de semeadura*. Piracicaba, 1982. 105p. Dissertação (Mestrado) - ESALQ/USP, 1982.
- CHAUHAN, K.P.S.; GOPINATHAN, M.C. & BABU, C.R. Electrophoretic variations of proteins and enzymes in relation to seed quality. *Seed Science and Technology*, Zürich, 13:629-641, 1985.
- DHESI, N.S.; DESORMEAUX, R.M. & PAUKSENS, J. Identification of wheat and barley varieties at the seedling stage. *Proceedings of the Association of Official Seed Analysts*, Geneva, 59:134-140, 1969.

- HUSSAIN, A.; SCANLON, M.G.; JULIANO, B.O. & BUSHUK, W. Discrimination of rice cultivars by polyacrilamide gel electroforesis and high-performance liquid chromatography. *Cereal Chemistry*, Saint Paul, **66**(4):353-356, 1989.
- JENSEN, H.A. & LEGASPI, R.S. Survey of rice seed samples of different cultivars for reaction to phenol. *Seed Science and Technology*, Zürich, **7**:265-275, 1979.
- LARSEN, A.L. Application of biochemical, serologica, and electrophoretic tests in characterization of varieties. *The News Letter of the Association of Official Seed Analysts*, Lincoln, **44**(3):21-26, 1970.
- LOWRY, O.H.; ROSENBROUGH, N.J.; FARR, A.L. & RANDALL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, Baltimore, **193**:265-275, 1951.
- MAEDA, J.A.; IADEROZA, M.; CAMARGO, C.E.O. & LAGO, A.A. *Técnicas laboratoriais para identificação de cultivares de trigo*. Campinas, Instituto Agrônômico, 1995. 32p. (Boletim Científico, 35)
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, Madison, **2**(1):176-177, 1962.
- MUNSELL soil color charts. Baltimore, Munsell Collor Company, 1954. n.p.
- PAYNE, R.C. Seed and cultivar identification. *Seed Science and Technology*, Zürich, **15**:641-644, 1987.
- PIMENTEL GOMES, F.P. *Curso de estatística experimental*. 4.ed. Piracicaba, Nobel, 1970. 480p.
- REISFELD, R.A.; LEWIS, V.J. & WILLIAMS, D.E. Disk electrophoresis of basic proteins and peptides on polyacrilamide gels. *Nature*, London, **195**:281-283, 1962.
- ROSTA, K. Variety determination in rice (*Oryza sativa* L.). *Seed Science and Technology*, Zürich, **3**:161-169, 1975.
- VANANGAMUDI, K.; PALANISAMY, V. & NATESAN, P. Variety determination in rice-phenol and potassium hydroxide tests. *Seed Science and Technology*, Zürich, **16**:465-470, 1988.
- VIEIRA, N.R.A. Pesquisa em sementes de arroz. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, **3**(3):53-57, 1981.
- WISEMAN, E.F. Use of length-width measurements and phenol tests in conjunction with seed characteristics to distinguish varieties of *Poa pratensis* L., Kentucky bluegrass. *Proceedings of the Association of Official Seed Analysts*, Geneva, **58**:46-57, 1968.
- YAN, C.Q. Identification of the genuineness and the purity of hybrid rice (*Oryza sativa* L.) and its parental lines by electrophoretic analysis of esterases. *Seed Science and Technology*, Zürich, **15**:645-649, 1987.