

PERFIS PROTÉICOS DE VARIEDADES PARENTAIS E HÍBRIDOS DE ARROZ E SUA CORRELAÇÃO COM HETEROSE¹

ANTONIO COSTA DE OLIVEIRA², ERIC DERBYSHIRE³, MARIA TERESA V. CARVALHO⁴ e AKIHIKO ANDO⁵

RESUMO - Duas cultivares japonesas e cinco brasileiras de arroz (*Oryza sativa* L.) foram analisadas quanto a características morfológicas e protéicas, e os híbridos de seus cruzamentos foram avaliados também quanto à heterose e heterobeltiose. As características protéicas em conjunto, como também as características morfológicas, permitiram discriminar entre os materiais individuais. Os perfis protéicos determinados sob condições dissociantes e os perfis de atividade fosfatase ácida (FAC), além de número de perfilhos produtivos, número de grãos por planta, produção de grãos e dias até 50% do florescimento (DPF), diferiram entre as cultivares japonesas e as brasileiras. O número de perfilhos produtivos, o de grãos por planta e DPF apresentaram correlações significativas com produção tanto para as cultivares como para os híbridos. Diferenças quantitativas na intensidade relativa da atividade de esterase entre os parentais e os híbridos, e, em menor extensão, diferenças qualitativas nos perfis de fosfatase ácida, foram relacionadas à heterobeltiose para peso de grãos. todos os híbridos com heterobeltiose positiva para peso de grãos envolviam o cruzamento da cultivar japonesa Senshou com uma cultivar brasileira. A proteína total não-dissociada permitiu diferenciar cada uma das quatorze amostras analisadas, mas a combinação dos caracteres protéicos fornece base mais segura para a discriminação.

Termos para indexação: *Oryza sativa*, heterose, isoenzimas.

PROTEIN PROFILES OF PARENTAL VARIETIES AND HYBRIDS OF RICE AND THEIR CORRELATION WITH HETEROSIS

ABSTRACT - Two Japanese and five Brazilian cultivars of rice (*Oryza sativa* L.), were analyzed for morphological and protein traits and the hybrids from their crosses were also evaluated for heterosis and heterobeltiosis. The protein traits in combinations, as well as the morphological traits permitted to discriminate at the individual level. The protein profiles determined under dissociating conditions and the acid phosphatase profiles (FAC), and the morphological characters number of productive tillers, number of grains per plant, grain production and days to flowering (DPF), differed between the Japanese and Brazilian groups. The number of productive tillers, number of grains per plant and DPF showed significant correlations with production both for cultivars and for hybrids. Quantitative differences in the relative intensity of esterase activity among the parental cultivars and hybrids and, as a smaller factor, qualitative differences in the acid phosphatase profiles were related to heterobeltiosis for grain weight. All the hybrids with positive heterobeltiosis for grain weight were derived from crosses between the Japanese cultivar Senshou and Brazilian cultivars. The total undissociated protein permitted to differentiate each of the fourteen samples analyzed, however the combination of protein characters gives a more secure basis for discrimination.

Index terms: *Oryza sativa*, heterosis, isoenzymes.

¹ Aceito para publicação em 2 de setembro de 1992.

² Eng.-Agr., M.Sc., Prof.-Assist., Dep. de Fitot., Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, CEP 97119 Santa Maria, RS.

³ Biól., Dr., Prof., Seção de Biol. de Proteínas Vegetais, CENA/USP, Caixa Postal 96, CEP 13400-970 Piracicaba, SP. Bolsista do CNPq.

⁴ Quím., Profa., Dra., Seção de Biol. de Proteínas Vegetais, CENA/USP. Bolsista do CNPq.

⁵ Eng.-Agr., Dr., Prof., Dep. de Genét., ESALQ e CENA/USP. Bolsista do CNPq.

INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) ocupa o segundo lugar em área entre os cereais mais cultivados no mundo, e representa o alimento básico para 4,5 bilhões de pessoas na Ásia. Outros continentes, como a África e a América Latina, têm aumentado a sua demanda rapidamente nos últimos anos.

No Brasil, este cereal é basicamente cultivado em duas condições distintas: irrigado, no Sul do País, e em cultivo de sequeiro, predominantemente nas regiões Central e Nordeste. A exploração da produtividade, principalmente na região de cultivo de arroz de sequeiro, é ainda muito pequena, seja pela utilização de pouca tecnologia, seja pelo emprego de variedades pouco responsivas (Blumenschein et al. 1983).

Uma alternativa para aumentar a produtividade em arroz seria o uso de cultivares híbridas, cuja viabilidade econômica já foi comprovada em países asiáticos, principalmente na China (Yuan & Virmani 1988).

A seleção de linhagens parentais visando à produção de híbridos melhorados é dependente de suas capacidades de combinação e produção de vigor híbrido. Um método relativamente rápido que vem sendo utilizado para a caracterização e comparação de genótipos de diversas culturas é o uso de perfis protéicos obtidos por eletroforese (Johnson et al. 1967, Pai et al. 1975, Nakai 1977, Derbyshire et al. 1981, Sullivan & Treyiag 1986). Vários grupos têm demonstrado correlações entre o grau de diversidade genética, indicado pela composição isoenzimática, e a heterose em milho (por exemplo, Heidrich-Sobrinho & Cordeiro 1975, Gonella & Peterson 1978, Chevallier & Dattée 1984); entretanto, estudos comparativos com arroz são escassos (Gupta & Singh 1977, Yl et al. 1984).

No presente trabalho, várias características protéicas de cultivares de arroz e seus híbridos foram analisadas através de eletroforese e comparadas com suas características morfológicas, a fim de procurar sua possível utilização na predição de heterose.

MATERIAL E MÉTODOS

Cultivares

Foram utilizadas cinco cultivares brasileiras de arroz: Agulha, Guedes, Bico Ganga, Pratão e Nuglin 24, e duas japonesas: Senshou e Kazusa Wase, pertencentes à coleção de germoplasma do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP.

Cruzamentos

Foram cruzadas cultivares brasileiras com japonesas, obtendo-se semente dos seguintes cruzamentos ($\text{♀} \times \text{♂}$): Senshou x Bico Ganga; Senshou x Pratão; Kazusa Wase x Nuglin 24; Bico Ganga x Kazusa Wase; Guedes x Kazusa Wase; Guedes x Senshou e Agulha x Kazusa Wase. As sementes foram semeadas em placas-de-petri 7 dias após a semeadura as plântulas foram transferidas para copos de plástico contendo vermiculita. Quatro dias depois, as plantas foram transferidas para vasos, em casa de vegetação. Dois vasos de cada material, constituindo duas repetições, foram utilizados no experimento.

Indicadores de heterose

Os híbridos e parentais foram analisados conforme os seguintes parâmetros morfológicos: dias até 50% do florescimento (DPF); altura da planta (AP) - medida do solo até a extremidade do perfilho mais alto na fase de maturação; número efetivo de perfilhos por planta (NP); comprimento de folha bandeira (CF); largura de folha bandeira (LF); comprimento de panícula (CP); número de grãos por planta (NG); peso de 1000 grãos (PG), estimado a partir do peso de 100 grãos; e produção de grãos por planta (P). O cálculo da heterose e heterobeltiose foi feito com uso das fórmulas:

$$H(\%) = \frac{F_1 - M_p}{M_p} \cdot 100$$

$$Hb(\%) = \frac{F_1 - P_2}{P_3} \cdot 100$$

onde:

- H = heterose
- Hb = heterobeltiose
- F1 = média do híbrido
- Mp = média dos pais
- Ps = média do pai superior.

Extração de proteína

Quarenta mg de farinha de endosperma foram tratados com 1 ml de solução de tampão fosfato salina (PBS), pH = 7,2, durante 20 minutos a 4°C. Após o tratamento, as amostras foram centrifugadas por 30 minutos a 27.000 g a 0°C. Quando foram analisadas sementes individuais, cada material foi tratado com 0,25 ml do mesmo tampão durante 5 minutos a 4°C, e posteriormente centrifugado a aproximadamente 550 g durante 5 minutos à temperatura ambiente.

Para a análise sob condições dissociantes, as proteínas extraídas foram aquecidas por 5 minutos a 100°C com a adição de SDS a 2% e 2-mercaptoetanol a 0,1%.

A quantificação de proteína foi feita segundo o método descrito por Lowry et al. (1951).

Procedimentos eletroforéticos

As proteínas foram separadas sob condições alcalinas na sua forma intacta, segundo o procedimento descrito por Davis (1964), sob condições ácidas, seguindo o procedimento descrito por Reisfeld et al. (1962) e também sob condições dissociantes (Laemmli 1970).

Coloração de proteínas

Foi usado, para a revelação de perfis de proteínas nativas e dissociadas, o corante inespecífico *Coomassie Blue* 0,1%. Para as colorações específicas de desidrogenase málica (DHM), esterase (EST) e fosfatase ácida (FAC), foram seguidos os métodos de Brewbaker et al. (1968) e Shaw & Prasad (1970). As mobilidades (R_m^2) das bandas protéicas foram medidas em relação à mobilidade do azul de bromo fenol no mesmo gel. Foram feitas comparações visuais entre os perfis das linhagens parentais e também dos híbridos e de seus respectivos pais. Os resultados destas observações foram então comparados com os dados obtidos dos caracteres morfológicos examinados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As cultivares japonesas destacaram-se das brasileiras quanto ao caráter de número de perfilhos produtivos, apresentando acima de 10 perfilhos por planta, enquanto que as brasileiras emitiram cerca de 4 a 8 perfilhos/planta (Tabela 1). Quanto ao número de grãos por planta e produção de grãos, também os dois grupos puderam ser separados, com as cultivares japonesas exibindo os valores mais altos. Em contraposição, os valores para DPF foram menores para as cultivares japonesas. Entretanto, a distinção entre os dois grupos não pode ser feita usando-se individualmente os caracteres altura da planta, comprimento da panícula e comprimento e largura da folha-bandeira, embora algumas variações tenham sido observadas e os valores dos dois últimos caracteres tenham sido menores nas cultivares japonesas do que na maioria das brasileiras.

Entre os caracteres morfológicos analisados,

três mostraram coeficientes de correlação significativos com produção de grãos (Tabela 2), a saber: o caráter número de perfilhos produtivos ($r = 0,58$) e os caracteres dias até florescimento ($r = 0,71$) e número de grãos por planta, ($r = 0,96$), apresentando significâncias aos níveis de 5%, 1% e 1% de probabilidade, respectivamente.

As análises de heterose (medida da diferença entre o híbrido e a média dos pais) e heterobeltiose (medida da diferença entre o híbrido e o pai, apresentando o valor mais alto) são apresentadas nas Tabelas 3 e 4.

Pela análise da Tabela 3, a percentagem de heterose foi positivamente significativa quanto aos caracteres peso de mil grãos (PG) e produção (P) no cruzamento Guedes x Senshou. O mesmo cruzamento foi o único a apresentar heterobeltiose significativamente positiva (Tabela 4) quanto ao peso de mil grãos (PG).

Os valores de heterose (H) e heterobeltiose (Hb) para o caráter dias até o florescimento (DPF) mostrados nas Tabelas 3 e 4, respectivamente, indicam uma dominância parcial da precocidade no caráter. Com relação ao caráter número de perfilhos (NP), somente os cruzamentos Kazusa Wase x Nuglin 24 (KW x N24) e Guedes x Kazusa Wase (G x KW) apresentaram valores de heterose positiva; entretanto, estes valores não se refletiram em heterose significativa na produção, apesar da correlação encontrada entre os dois caracteres ($r = 0,68$).

Os perfis eletroforéticos obtidos sob condições dissociantes também permitiram discriminar as cultivares japonesas das brasileiras. Uma banda de mobilidade relativa 0,57 (Fig. 1) esteve presente nos perfis das cultivares japonesas e ausente nos das nacionais. Além disso, estes perfis permitiram diferenciar as duas cultivares japonesas através das intensidades relativas das bandas 0,51 e 0,94. Por outro lado, não foram detectadas diferenças marcantes entre os perfis das cultivares brasileiras.

Os componentes principais observados por Akiyama (1990) em perfis da cultivar japonesa Kinmaze são facilmente identificadas nos perfis de Fig. 2, e permitem a detecção da banda de R_m 0,57 também no perfil desta cultivar. Entretanto, a cultivar Kinmaze difere das duas cultivares Senshou e Kazusa Wase, uma vez que os compo-

TABELA 1. Médias dos caracteres utilizados como indicadores de heterose, nas cultivares e híbridos de arroz.

Cultivares	(AP) (cm)	DPF	NP	CF (cm)	LF (cm)	CP (cm)	NG	PG (g)	P (g/planta)
Senshou	111,13 ± 0,53	87,0 ± 0,00	16,00 ± 3,54	27,70 ± 1,73	1,26 ± 0,06	19,71 ± 0,21	712,50 ± 65,05	27,50 ± 1,51	19,64 ± 2,87
Kazusa Wase	124,53 ± 3,15	89,0 ± 0,00	10,75 ± 0,35	33,07 ± 0,20	1,53 ± 0,08	24,80 ± 0,54	1087,25 ± 52,68	21,16 ± 1,55	22,97 ± 0,57
Bico ganga	110,00 ± 4,95	124,0 ± 2,83	5,75 ± 1,77	41,82 ± 6,31	1,71 ± 0,05	23,15 ± 1,02	417,75 ± 30,76	30,44 ± 1,03	12,70 ± 0,51
Guedes	97,00 ± 3,89	153,5 ± 0,71	5,50 ± 0,71	35,14 ± 5,01	1,90 ± 0,01	22,57 ± 0,69	114,00 ± 7,07	25,56 ± 1,93	2,91 ± 0,04
Pratão	128,38 ± 7,60	135,5 ± 4,95	5,25 ± 1,77	36,30 ± 1,46	1,72 ± 0,00	21,38 ± 1,29	295,25 ± 8,84	27,45 ± 1,13	8,10 ± 0,08
Muglin 24	148,00 ± 4,95	125,0 ± 1,41	4,25 ± 1,06	53,16 ± 9,93	1,83 ± 0,09	27,19 ± 3,18	403,00 ± 41,01	24,91 ± 0,89	10,02 ± 0,66
Aguilha	122,13 ± 1,59	126,0 ± 9,90	7,25 ± 0,35	35,16 ± 3,88	1,57 ± 0,22	24,82 ± 1,87	336,50 ± 57,28	30,63 ± 0,67	10,29 ± 1,53
Senshou x B.Ganga	124,75	-*	5,50	26,55	1,37	21,27	362,00	30,89	11,18
Senshou x Pratão	124,75	-	10,00	27,50	1,50	21,79	420,00	27,74	11,66
K.Wase x Muglin24	142,00	-	8,50	35,30	1,43	26,39	289,00	24,77	7,16
B.Ganga x K.Wase	128,00	-	7,00	37,09	1,53	26,12	209,00	24,02	5,02
Guedes x K.Wase	128,75 ± 5,66	101,0 ± 0,00	9,25 ± 1,77	31,58 ± 0,54	1,52 ± 0,16	25,57 ± 0,44	575,75 ± 53,39	23,98 ± 0,28	13,82 ± 1,44
Guedes x Senshou	124,25 ± 0,35	96,0 ± 4,24	9,25 ± 0,35	35,32 ± 3,51	1,52 ± 0,01	24,90 ± 0,98	559,25 ± 78,14	29,94 ± 0,50	16,76 ± 2,62
Aguilha x K.Wase	127,50 ± 0,35	102,5 ± 0,71	7,25 ± 1,06	28,69 ± 0,50	1,31 ± 0,11	23,51 ± 1,30	422,25 ± 26,52	25,14 ± 1,82	10,59 ± 0,10 a

AP = Altura de planta;

CF = Comprimento de folha bandeira;

NG = Número de grãos por planta;

DPF = Dias até florescimento;

LF = Largura da folha bandeira;

PG = Peso de 1000 grãos;

NP = Número de perfilhos produtivos;

CP = Comprimento da panícula;

P = Produção.

* = Não foi possível calcular o desvio padrão devido à ausência de repetições.

nentes correspondendo às bandas de Rm 0,51 e 0,94 parecem ter, no trabalho citado, aproximadamente as mesmas intensidades.

Os perfis de proteína total não dissociada (Fig. 2) foram diferentes para cada cultivar, e por isso este caráter pode ser considerado um marcador bastante útil para a caracterização e discriminação individual de cultivares.

Entretanto, devido a esta variação, não foi possível, através destes perfis, discriminar as cultivares japonesas das brasileiras.

Todos os perfis com atividade de esterase (Fig. 3) apresentaram os mesmos dois componentes. Foram observadas diferenças nas intensidades relativas destas bandas. Entretanto, elas não permitiram uma completa discriminação entre as cultivares individuais e nem entre os grupos de japonesas e brasileiras. Em todos os perfis dos híbridos, com exceção de um, a coloração das bandas não foi mais intensa do que as apresentadas pelas linhagens parentais, e entre estes híbridos, os valores para heterose e heterobeltiose relativos ao peso de grãos foram negativos ou não significativamente diferentes de zero. Em contraposição, o único híbrido (Guedes x Senshou) que apresentou uma significativa heterobeltiose positiva para peso de grãos, também foi o único a exibir intensidade de esterase mais forte que as de seus pais. Esta correlação da intensidade de bandas de esterase com o caráter peso de grãos concorda com os resultados obtidos por Gupta & Singh (1977).

Os padrões da enzima fosfatase ácida (Fig. 4)

TABELA 2. Coeficientes de correlação entre os caracteres analisados e produção de grãos por planta.

Caráter	Coefficiente de correlação
Altura de planta	0,00ns
Dias até florescimento	-0,71**
Número de perfilhos produtivos	0,58*
Comprimento de folha bandeira	-0,25ns
Largura de folha bandeira	-0,44ns
Comprimento de panícula	-0,16ns
Número de grãos por planta	0,96**
Peso de 1000 grãos	-0,05ns

ns, *, ** = Não-significativo, significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

TABELA 3. Análise de heterose (H) dos cruzamentos realizados.

	H%						
	S x BG	S x Pr	KW x N24	BG x KW	G x KW	G x S	A x KW
DPF	-3,32	-7,42	-1,33	-4,23	-16,87	-20,17	-4,65
NP	-49,45	-6,37	13,33	-15,15	13,78	-13,95	-19,45
PG	6,63ns	0,95ns	7,51ns	-6,90ns	2,61ns	12,81*	-2,97ns
P	-30,86**	-15,93ns	-28,54**	-71,86**	6,80ns	48,71**	-36,32**

ns, *, ** = Não-significativo, significativo a 5% e 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

TABELA 4. Análise de heterobeltiose (Hb) dos cruzamentos realizados.

	Hb%						
	S x BG	S x Pr	KW x N24	BG x KW	G x KW	G x S	A x KW
DPF	-17,71	-23,99	-11,20	-17,74	-34,20	-37,56	-18,65
NP	-65,62	37,50	-20,93	-34,88	-13,95	-42,19	-32,56
PG	1,48ns	0,87ns	-0,56ns	-21,19**	-6,25ns	8,87 [±]	-17,92**
P	-43,08**	-40,63**	-58,83**	-78,15**	-39,93**	-14,66 [±]	-53,90**

ns, **, + = Não-significativo, significativo a 1% e significativo entre 5-10% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

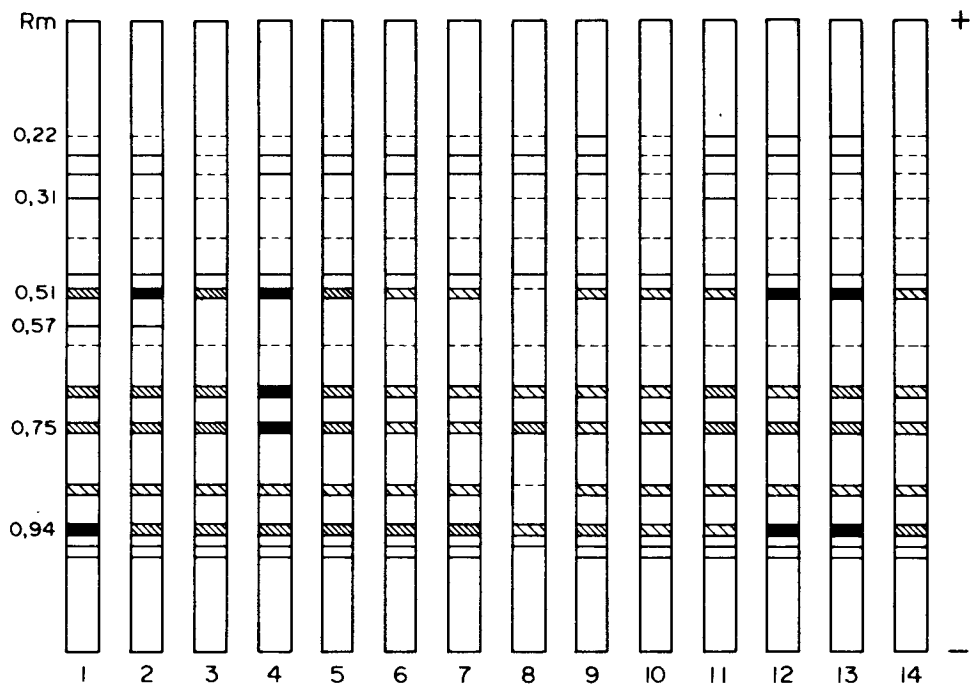


FIG. 1. Perfis eletroforéticos dos polipeptídeos das proteínas solúveis do endosperma de cultivares e híbridos de arroz. 1 - Senshou, 2 - Kazusa Wase, 3 - Bico Ganga, 4 - Guedes, 5 - Pratão, 6 - Nuglin 24, 7 - Agulha, 8 - 1 x 3, 9 - 1 x 5, 10 - 2 x 6, 11 - 3 x 2, 12 - 4 x 2, 13 - 4 x 1, 14 - 7 x 2. Rm - mobilidade relativa.

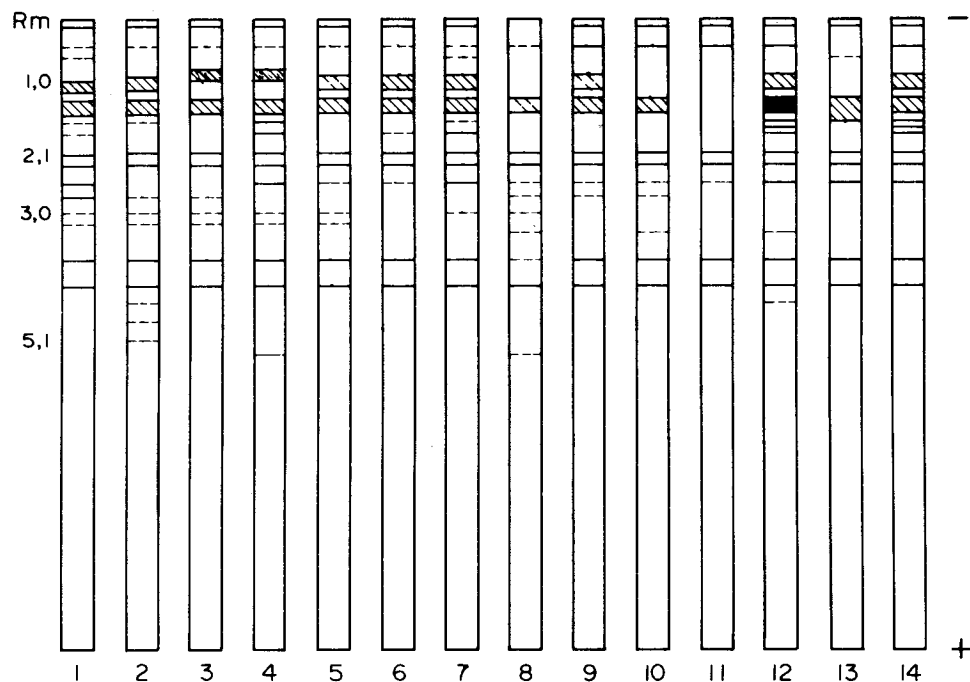


FIG. 2. Perfis eletroforéticos das proteínas de cultivares e híbridos de arroz em gel de acrilamida de pH alcalino. Os perfis são numerados conforme Fig. 1.

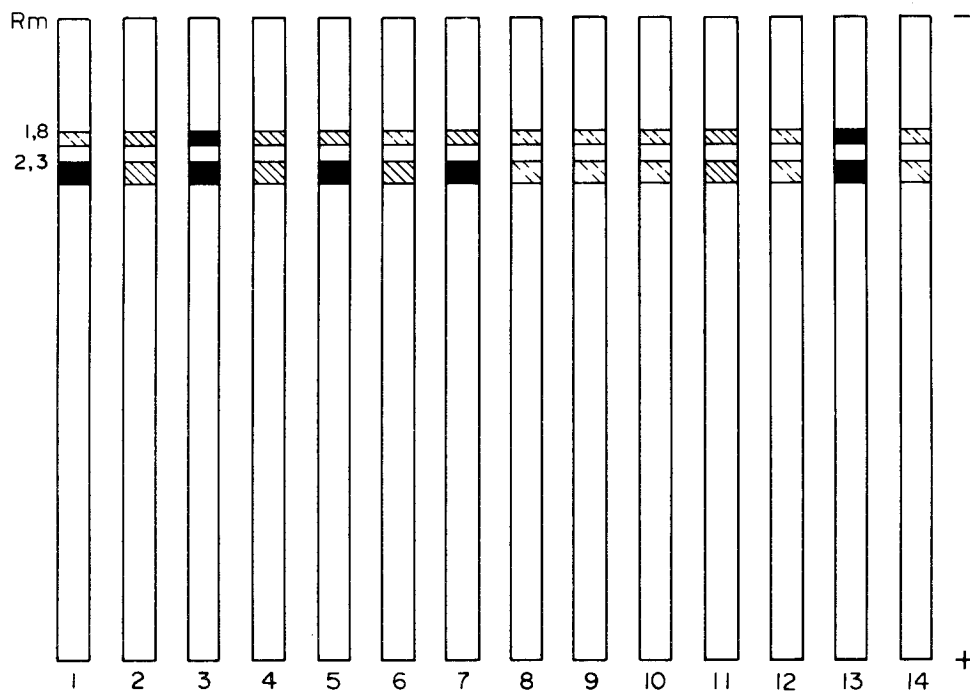


FIG. 3. Perfis eletroforéticos de esterase das cultivares e híbridos de arroz. Os perfis são numerados conforme Fig. 1.

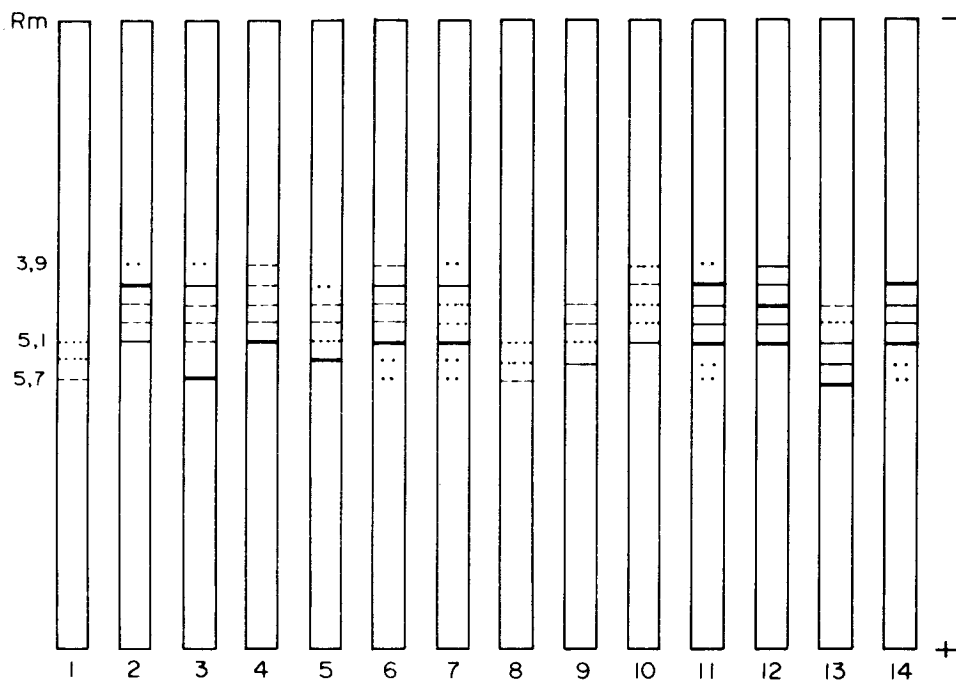


FIG. 4. Perfis eletroforéticos de fosfatase ácida das cultivares e híbridos de arroz. Os perfis são numerados conforme Fig. 1.

foram constituídos de várias bandas, com um mínimo de três (Senshou) e um máximo de sete (Bico Ganga, Nuglin 24, Agulha e no híbrido Bico Ganga x Kazusa Wase). Os resultados assemelham-se aos obtidos por Endo et al. (1971). Estes autores identificaram três bandas principais e quatro secundárias em híbridos de *Oryza sativa* e *O. perennis*. No presente trabalho, quatro bandas principais foram encontradas nos parentais, sendo que cada cultivar expressou uma banda principal. Foram constatadas nos híbridos até duas bandas principais. Das cultivares japonesas, a Senshou apresentou um perfil mais diferenciado dos apresentados pelas cultivares brasileiras, apresentando três bandas fracas, e seus híbridos apresentaram ou o mesmo perfil ou um perfil com uma destas bandas mais intensa. Estes híbridos (Senshou x Bico Ganga, Senshou x Pratão e Guedes x Senshou) foram os únicos que mostraram heterobeltiose positiva para o caráter peso de grãos.

Os perfis de desidrogenase málica estão apre-

sentados na Fig. 5. Estes perfis contiveram dois grupos de bandas de mobilidades diferentes e o grupo menos móvel foi sempre composto das duas mesmas bandas. Estas duas bandas não foram completamente resolvidas, e suas intensidades variaram entre as amostras. O grupo mais móvel foi separado em dois componentes nos perfis das cultivares e no do híbrido Kazusa Wase x Nuglin 24, e em três nos dos outros híbridos. As intensidades destas bandas também variaram entre os perfis, e esta variação (juntamente com uma resolução incompleta) pode explicar a ausência aparente da banda mais móvel nos perfis das cultivares. Por sua vez, a terceira banda pode ter resultado de uma complementação entre diferentes alelos localizados nos parentais, como já foi anteriormente descrito em arroz (Second 1982) e milho (Goodman et al. 1980). As observações de uma geração F_2 do cruzamento Bico Ganga x Kazusa Wase e seu recíproco (Oliveira 1988) foram consistentes com a existência de complementação.

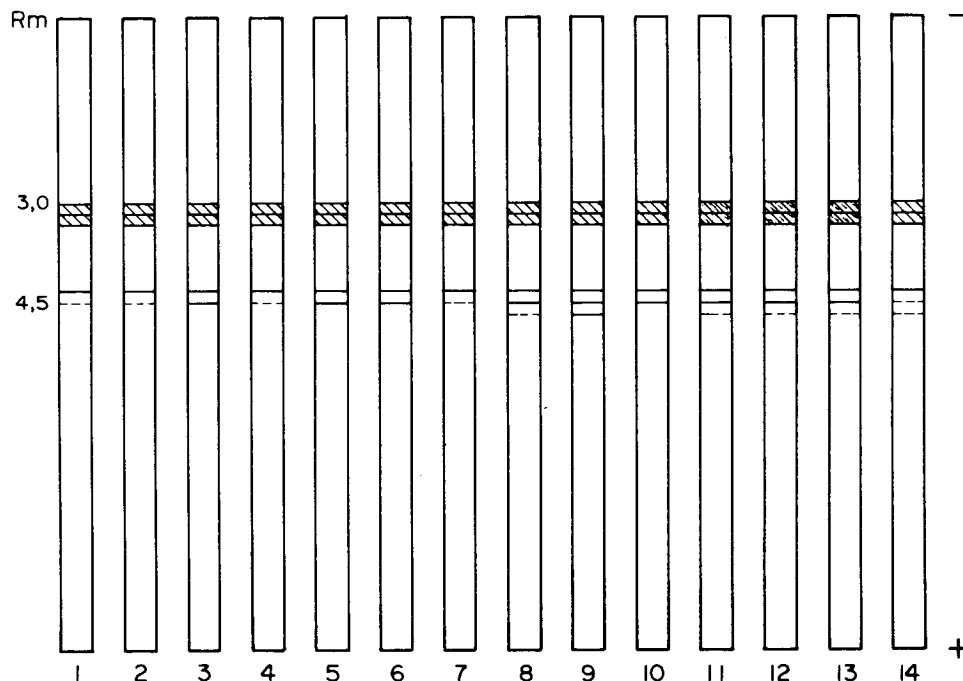


FIG. 5. Perfis eletroforéticos de desidrogenase málica das cultivares e híbridos de arroz. Os perfis são numerados conforme Fig. 1.

CONCLUSÕES

1. Entre os caracteres protéicos de duas cultivares japonesas, cinco brasileiras e seus híbridos, as isoenzimas de fosfatase ácida e esterase tiveram perfis bem correlacionados com heterobeltiose para peso de grão.

2. A fosfatase ácida e a proteína total dissociada discriminaram as cultivares japonesas das brasileiras e indicaram um parentesco mais próximo entre as brasileiras do que entre as japonesas.

3. A proteína total não dissociada permitiu diferenciar cada uma das quatorze amostras analisadas, entretanto a combinação dos caracteres protéicos fornece uma base mais segura para a discriminação.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pelo suporte financeiro ao projeto de pesquisa.

REFERÊNCIAS

- AKIYAMA, T. Glycoproteins in Rice Starchy Endosperm. **Agricultural & Biological Chemistry**, v.54, n.10, p.2731-2732, 1990.
- BLUMENSCHNEIN, A.; AQUINO, A.R.L. de; BLUMENSCHNEIN, F.; DALL'AQUA, F. A cultura do arroz de sequeiro no Brasil problemas e perspectivas. In: CULTURA DO ARROZ DE SEQUEIRO, 1983, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal, SP: UNESP, 1983. p.15-34.
- BREWBAKER, J.L.; UPADHYA, M.D.; MAKINEN, Y.; MACDONALD, T. Isoenzyme polymorphism in flowering plants. III. Gel electrophoretic methods and applications. **Physiologia Plantarum**, v.21, p.930-940, 1968.
- CHEVALLIER, M.H.; DATTÉE, Y. Variabilité enzymatique chez le maïs. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, v.26, n.2, p.214-228, 1984.
- DAVIS, B.J. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. **Annals of the New York Academy of Science**, New York, v.121, p.404-427, 1964.
- DERBYSHIRE, E.; MÜLLER, H.P.; CARVALHO, M.T.; CROCOMO, O.J. Protein profiles of brazilian beans (*Phaseolus vulgaris*) obtained by electrophoresis in slabs of polyacrylamide gel. **Energia Nuclear na Agricultura**, Piracicaba, v.3, p.100-109, 1981.
- ENDO, T.; SHIAHI, B.B.; PAI, C. Genetic convergence of the specific acid phosphatase zymograms in *Oryza sativa*. **Japanese Journal of Genetics**, Mishima, v.46, p.147-152, 1971.
- GONELLA, J.A.; PETERSON, P.A. Isozyme relatedness of inbred lines of maize and performance of their hybrids. **Maydica**, Bergamo, v.23, p.55-61, 1978.
- GOODMAN, M.M.; STUBER, C.W.; LEE, C.N.; JOHNSON, F.W. Genetic control of malate dehydrogenase isozymes in maize. **Genetics**, Baltimore, v.94, p.153-163, 1980.
- GUPTA, V.K.; SINGH, S.P. Biochemical basis of hybrid vigour. The genetics of grain weight of *Oryza sativa*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.99, p.259-267, 1977.
- HEIDRICH-SOBRINHO, E.; CORDEIRO, A.R. Concomitant isoenzyme alleles as markers of genetic diversity correlated with heterosis in Maize (*Zea mays* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.46, p.197-199, 1975.
- JOHNSON, B.L.; BARNHART, D.; HALL, O. Analysis of genome and species relationships in the polyploid wheats by protein electrophoresis. **American Journal of Botany**, New York, v.54, p.1089-1098, 1967.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, London, v.227, p.680-685, 1970.
- LOWRY, O.M.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.93, p.165-275, 1951.
- NAKAI, Y. Variations of esterase isozymes and some soluble proteins in diploids and their induced autotetraploids in plants. **Japanese Journal of Genetics**, Mishima, v.52, p.171-81, 1977.
- OLIVEIRA, A.C. Utilização de técnicas eletroforéticas para o estudo da heterose em arroz (*Oryza sativa* L.). Piracicaba: [s.n.], 1988. 105p. Dissertação de Mestrado.
- PAI, C.; ENDO, T.; OKA, H.I. Genic analysis for acid phosphatase isozyme in *Oryza perennis* and *Oryza sativa*. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ottawa, v.17, p.637-650, 1975.

- REISFELD, R.A.; LEWIS, V.T.; WILLIAMS, D.E. Disk electrophoresis of basic proteins and peptides on polyacrylamide gels. **Nature**, London, v.95, p.281-283, 1962.
- SECOND, G. Origin of the genic diversity of cultivated rice (*Oryza* ssp.); study of the polymorphism scored at 40 isozyme loci. **Japanese Journal of Genetics**, Mishina, v.57, p.25-57, 1982.
- SHAW, C.R.; PRASAD, R. Starch gel electrophoresis of enzymes. A compilation of recipes. **Biochemical Genetics**, v.4, p.297-320, 1970.
- SULLIVAN, J.G.; TREYIAG, G. Predicting interspecific compatibilities in beans (*Phaseolus*) by seed protein electrophoresis. **Euphytica**, Wageningen, v.35, p.201-209, 1986.
- YI, Q.M.; SHI, S.Y.; JIANG, J.R. Analysis of the Esterase isozymes in three lines and F1 in *Oryza sativa* and Prediction of Heterosis. **Acta Botanica Sinica**, Jiangsu, v.26, p.506-512, 1984.
- YUAN, L.P.; VIRMANI, S.S. Organization of a hybrid rice breeding program. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON HYBRID RICE, 1986, Changsha, Hunan, China. **Proceedings...** Manila: International Rice Research Institute, 1988. p.33-37.