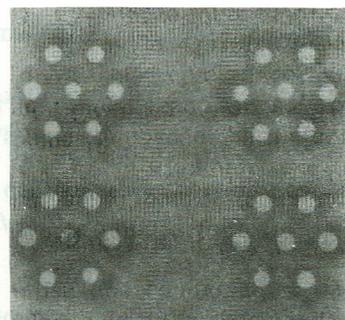


armazenado em presença de azida sódica a 1%, em tubos de Eppendorff de 200 ul e mantidos à temperatura de -80°C. Para cada sangria, foram realizados testes de imunodifusão e western blot, para determinação da qualidade do anti-soro obtido. O anti-soro que não demonstrou boa capacidade de reconhecer o seu antígeno foi descartado.

A Figura 51a mostra que, a partir da sexta sangria, o anti-soro contra Rubisco mostrou capacidade de reconhecer a enzima extraída de folhas de milho, sorgo, espinafre e a proteína purificada. Esses anti-soros foram utilizados para o desenvolvimento de um ELISA indireto que pudesse ser utilizado na quantificação dessas enzimas, em extratos crus (EC) obtidos de folhas. Extratos crus, obtidos em tampão de carbonato pH 9,6, foram incubados por quatro horas a 37°C (ou por doze horas a 4°C) em placas de ELISA Immulon 2, fabricadas pela Dynatch. Após esse período de incubação, cada cisterna foi lavada três vezes com PBS-Tween 20 e, a seguir, incubada com o anti-soro específico contra cada enzima diluída em PBS-Tween 20, contendo PVPP, novamente lavada e, a seguir, incubada com IgG de cabra contra coelho, previamente conjugada com fosfatase alcalina (goat anti-rabbit IgG-alkaline phosphatase, adquirida da Sigma), e diluída em PBS-Tween 20 contendo PVPP e BSA. O desenvolvimento de cor foi feito com p-nitrofenil fosfato e a absorbância lida em 405 nm. As concentrações do EC e anti-soros utilizados durante o desenvolvimento deste protocolo variaram entre 1:100 e 1:10.000. Verificou-se que a combinação ótima de EC e anti-soro geralmente acontecia quando o EC foi diluído 1:1.000 e o anti-soro a 1:1.5000.

Todos os tratamentos experimentais foram conduzidos com duas repetições e as curvas-padrão foram desenvolvidas para permitir interpolação de resultados para análises quantitativas. Este protocolo tem sido utilizado rotineiramente para quantificação dessas enzimas em folhas de milho, sorgo e soja. Comparado com o método de SRID, este protocolo permite a quantificação de um maior número de amostras por placa e consome menor quantidade dos anti-soros. - Antônio Álvaro Corsetti Purcino, Edilson Paiva, Marlúcia Rocha e Silva.



**FIGURA 51a.** Teste de imunodifusão da sexta sangria, o anti-soro obtido contra Rubisco mostrou reação contra extratos foliares de milho, sorgo, espinafre e a proteína pura. O teste de Western blot mostrou uma única banda.

### COMPONENTES DA EFICIÊNCIA DE USO DE NITROGÊNIO NAS CULTIVARES BR 201-F E BR 451, CULTIVADAS EM CASA DE VEGETAÇÃO

O objetivo deste trabalho foi determinar a eficiência do uso de nitrogênio no híbrido simples BR 201-F e na cultivar de alta qualidade protéica BR 451, de acordo com a metodologia proposta por Moll et al. (1982). O detalhamento desta metodologia foi apresentado no Relatório Técnico Anual do CNPMS 1988-1991.

O experimento foi conduzido em vasos de 20 litros, contendo um Latossolo Vermelho-Escuro, fase cerrado, onde cada cultivar foi submetida às condições: 1) controle; 2) adubação nitrogenada (correspondente a 130 kg/ha de N, dividida em cinco aplicações); 3) inoculação no plantio com uma mistura de três estirpes de *Azospirillum* sp. - Sp 82, Sp 242 e Sp Eng-501; 4) combinações da adubação nitrogenada com a inoculação. Antes do plantio, cada vaso recebeu uma adubação basal com P, K e micronutrientes e o delineamento experimental foi completamente ao acaso, com tratamentos em fatorial 2x4 (duas cultivares, quatro fontes de N), repetidos dez vezes.

Para a análise dos componentes da eficiência, considerou-se que o solo tinha capacidade de fornecer 40 kg/ha de N para as plantas. As equações básicas utilizadas nessa análise foram: Efic. uso de N = (Efic. de absorção) x (Efic. de Utilização), ou seja:  $Gw/Ns = (Nt/Ns) \cdot (Gw/Nt)$  onde  $Gw/Nt = (Gw/Na)$ ,  $(Ng/Nt)$  e  $Ng/Nt = (Na/Nt) \cdot (Ng/Na)$ . Na forma

logarítmica, estas expressões se transformam em  $Y = X_1 + X_2$  onde  $X_2 = X_3 + X_6$  e  $X_3 = X_4 + X_5$ .

Nas Tabelas 206 e 207, tem-se que:  $rx_{iy}$  = coeficiente de correlação entre o componente  $x_i$  e  $y$ ;  $Sx_i/Sy$  = quociente entre os desvios padrões de  $Sx_i$  e  $Sy$  e  $x_{iy}/y$  = proporção da soma de quadrados da eficiência de uso do nitrogênio atribuída ao componente  $x_i$  onde,  $\Sigma x_{iy}/\Sigma y = (rx_{iy})(Sx_i/Sy)$ .

Com base nos dados experimentais, obtidos para o híbrido BR 201-F (Tabela 206), as seguintes observações podem ser feitas:

a) Exceto no nível de 170 kg/ha de N, a eficiência de absorção estava correlacionada com a eficiência de uso.

b) No nível de 170 kg/ha de N, a inoculação com azospirilo melhorou a correlação entre a eficiência de absorção e a eficiência de uso. Este efeito, entretanto, não foi observado no nível mais baixo de N no solo.

c) Nos quatro tratamentos estudados, a eficiência de utilização estava correlacionada com a eficiência de uso.

d) Ao contrário do observado para eficiência de absorção, a inoculação com azospirilo não aumentou a correlação entre a eficiência de utilização e a eficiência de uso, no nível de 170 kg/ha de N.

e) A eficiência de utilização foi mais fortemente influenciada por  $Ng/Nt$  do que por  $Gw/Ng$ , e o componente  $Ng/Nt$ , por sua vez, foi fortemente influenciado pelas relações entre  $Na/Nt$  e  $Ng/Na$ .

f) Estes resultados indicam que a eficiência de uso de nitrogênio na cultivar BR 201-F foi influenciada tanto pela eficiência de absorção quanto pela eficiência de utilização de nitrogênio, e que esta, por sua vez, foi fortemente influenciada pela utilização do nitrogênio que foi absorvido (neste caso, perdido pela parte aérea) pela planta depois do embonecamento.

Para a cultivar BR 451, os dados da Tabela 207 permitem que se façam as seguintes observações:

a) A eficiência de uso estava associada apenas à eficiência de utilização, mas não à eficiência de absorção do nitrogênio.

b) A eficiência de utilização foi mais fortemente influenciada por  $Gw/Ng$  que por  $Ng/Nt$ .

Na Tabela 208, aparecem a eficiência do uso de nitrogênio e seus componentes de eficiência de absorção e utilização para os dois genótipos utilizados neste experimento. Por estes resultados, as seguintes observações podem ser feitas:

a) A eficiência de uso nos dois genótipos foi maior no nível mais baixo de N no solo.

b) Nas plantas-contrôle do híbrido BR 201-F, a inoculação com azospirilo aumentou a eficiência de uso em 38%, devido a um aumento de 9,9% na eficiência de absorção e de 25% na eficiência de utilização de nitrogênio. Nenhum efeito desta natureza foi observado para a inoculação em plantas que foram adubadas com nitrogênio mineral.

c) O efeito da inoculação com azospirilo na eficiência de utilização foi devido à melhoria causada na utilização do N absorvido pelas plantas depois do embonecamento.

d) Nas plantas-contrôle da cultivar BR 451, a inoculação com azospirilo melhorou a eficiência de uso em 20%, basicamente porque a inoculação aumentou a eficiência de utilização nessas plantas. Nessa cultivar, a inoculação não influenciou a eficiência de absorção em nenhum dos dois níveis utilizados de adubação com N mineral. - Antônio Álvaro Corsetti Purcino, Antônio Carlos de Oliveira.

**TABELA 206.** Efeito do nitrogênio mineral e da inoculação com estirpes homólogas de azospirilo na soma dos quadrados dos componentes de eficiência de uso de nitrogênio na cultivar BR 201-F. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1994.

Componentes	log	Nitrogênio kg/ha	$rx_{iy}$	$Sx_i/Sy$	$\Sigma x_{iy}/\Sigma y$
Efic. de uso	y	-	-	-	-
Efic. de absorção Nt/Ns/	x1	40	0.694	0.660	0.458
		170	0.235	0.220	0.058
		40i	0.901	0.552	0.497
		170i	0.718	0.836	0.600
Efic. utilização Gw/Nt	x2	40	0.750	0.717	0.538
		170	0.976	0.971	0.948
		40i	0.903	0.559	0.505
		170i	0.564	0.712	0.402
Ngrão/Ntotal Ng/Nt	x3	40	0.942	0.553	0.521
		170	0.979	0.602	0.589
		40i	0.677	0.331	0.224
		170i	0.553	0.685	0.379
N absorvido após embonecamento/Nt Na/Nt	x4	40	0.606	1.717	1.041
		170	0.029	0.963	0.028
		40i	0.728	4.621	3.364
		170i	-0.036	1.822	-0.066
Ngrão/N absorvido após embonecamento Ng/Na	x5	40	-0.401	1.289	-0.517
		170	0.468	1.199	0.581
		40i	-0.685	4.579	-3.137
		170i	0.232	1.932	0.448
Prod. grão/Ngrão Gw/Ng	x6	40	0.025	0.660	0.017
		170	0.881	0.407	0.359
		40i	0.529	0.524	0.277
		170i	0.021	0.781	0.016