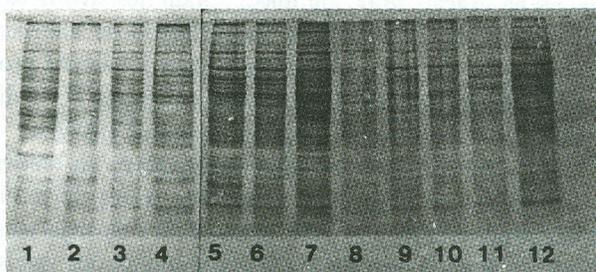


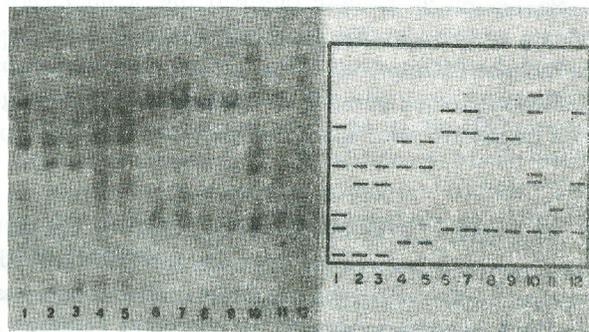
significativas nas características simbióticas dessas estirpes, submetidas à ação da temperatura avaliada através da atividade da nitrogenase, peso seco da planta e nitrogênio total fixado.

A caracterização protéica usando separação eletroforética em gel de poliacrilamida mostrou que o padrão de proteínas pode ser usado para separar estirpes entre e dentro das espécies (Figura 28). Porém, não se evidenciaram modificações nos padrões das estirpes das duas espécies submetidas à ação da temperatura, em relação aos seus pares originais.

A caracterização do material genômico, realizada através da hibridização do DNA total, usando "nif probe" marcada da via "nick translation" (biotina 14 dATP), quando a digestão foi efetuada com *Eco RI*, diferenciou a espécie de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* - tipo I (uma cópia gen nif) de *R. tropici* - tipo II (multicópias gen nif). Quando o DNA total foi digerido com *Bam HI* o DNA das estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* (tipo I) apresentou polimorfismo não evidenciado com *Eco RI* e padrões homólogos entre as estirpes de *R. tropici* (tipo II). Já quando a digestão foi efetuada com *Hind III* o polimorfismo foi mais bem evidenciado, diferenciando inclusive as estirpes de *R. tropici* (tipo II), (Figura 29). Esses resultados indicam uma diversificação genética mais evidente nas estirpes de *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* (tipo I). Não se detectaram alterações nos padrões genômicos de uma estirpe antes e após exposição a temperatura nas duas espécies de *Rhizobium*, indicando que os plasmídeos Sym dessas estirpes foram mantidos e que essas estirpes mais tolerantes a altas temperaturas são provavelmente mais estáveis. - Nadja Maria Horta de Sá Carneiro, Edilson Paiva, Avílio Antônio Franco.



**FIGURA 28.** Eletroforese SDS-PAGE. Padrão de proteínas totais de estirpes parentais *R. leguminosarum* bv. *phaseoli* (tipo I): (1) Semia 476, (2) CPAC H<sub>35</sub>, (3) CPAC H<sub>14</sub>, (4) BR 365 e de *R. tropici* (tipo II). (5) CIAT 899, (6) CFNA CO<sub>5</sub> II, (7) CPAC H<sub>20</sub>, (8) Car 22, (9) BR 814, (10) BR 818, (11) BR 817, (12) Na 82. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1992.



**FIGURA 29.** Southern blot hibridização, "nif probe" marcado com biotina através de "nick translation". DNA total digerido com *Hind III* das estirpes parentais de *R. leg. bv. phaseoli* (tipo I) (1) Semia 476, (2) BR 365, (3) CPAC H<sub>14</sub>, (4) CPAC H<sub>35</sub>, (5) CPAC H<sub>20</sub>, e de *R. tropici* (tipo II) (6) CIAT 899, (7) CFNA CO<sub>5</sub> II, (8) CPAC H<sub>20</sub>, (9) Na 82, (10) BR 812, (12) BR 818. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1992.

#### ESTUDO COMPARATIVO DE ESTIRPES DE *Bradyrhizobium japonicum* ISOLADAS DOS CERRADOS, ATRAVÉS DE SUAS CARACTERÍSTICAS PROTÉICAS ANTIGÊNICAS E DE COMPETITIVIDADE

Na década de setenta, a soja foi introduzida nos cerrados brasileiros e estirpes de vários sorogrupos (965, R54a, 566, CB-1809, 29W e 587) foram preparadas como inoculante. Somente as estirpes 29W e 587 persistiram e dominaram nesses solos. A estirpe CB 1809, por ser muito eficiente na fixação de nitrogênio, seria o inoculante ideal, se não apresentasse sérios problemas de adaptação aos solos de cerrado.

Por outro lado, a estirpe 566, introduzida nos cerrados há 15 anos, vem apresentando uma dominância nos nódulos em nível de 60% em relação à 29W e à 587. Esse fato sugere que estirpes do grupo sorológico 566 adquiriram capacidade para se estabelecerem e competirem com a 29W e a 587, quando comparada com a estirpe 566 parental. Essas populações de *B. japonicum*, naturalmente selecionadas por sua competitividade elevada, se apresentam como um material adequado para estudos de caracterização de determinantes celulares, envolvidos na competitividade.

Nessa perspectiva, foi analisada a ocorrência da estirpe 566 em nódulos de soja de 5 diferentes tipos de solo de cerrado, confirmando a dominância dessas estirpes na ordem de 60%. Essas estirpes do sorogrupo 566, adaptadas aos cerrados, foram isoladas e testadas quanto à sua capacidade competitiva, em relação à 29W, em condições assépticas de jarro de Leonard. Após identificação sorológica (imunoadesão) dos nódulos, foi possível selecionar um pequeno grupo de 5 estirpes altamente competitivas, em relação à 29W. Essas estirpes foram comparadas com a estirpe 566 paren-

tal, através de técnicas de imunodifusão e imunoeletroforese, concluindo-se que as estirpes 566 adaptadas e a parental reconhecem igualmente o soro 566 parental, sugerindo similaridade antigênica.

Procedeu-se, então, à análise protéica dessas estirpes, assim como das parentais 29W, CB 1809 e 587. Essa análise foi feita em eletroforese de gel de poliácridamida com Dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). O perfil eletroforético das proteínas totais dessas estirpes não permitiu indicar qualquer diferença entre as estirpes 566 e aquelas adaptadas. O perfil das proteínas do envelope celular, pelo contrário, indicou a presença de uma forte banda de peso molecular, com aproximadamente 40.000, nas estirpes 566 adaptadas, o que não sucedeu com a 566 parental e com aquelas pouco competitivas.

Quando essas estirpes foram previamente submetidas ao contacto com a rizosfera de soja, a análise das proteínas do envelope celular evidenciou que essas estirpes responderam à planta com alterações na densidade das bandas protéicas eletroforéticas. Com a leitura densitométrica dessas bandas, foi possível evidenciar que as estirpes pouco competitivas, como 566 parental, CB 1809 e 566 adaptadas de baixa competitividade responderam à planta, principalmente, com as bandas de peso molecular (PM) de aproximadamente 44.000. As estirpes muito competitivas, como 29W, 587 e estirpes 566 adaptadas de elevada competitividade respondem com as bandas protéicas de PM  $\approx$  44.000, 40.000 e 37.000. Estudos de competitividade dessas estirpes antes e após contacto com a rizosfera de soja evidenciam que aquelas respostas protéicas estão correlacionadas com a competitividade.

Com base nesses dados, permitiu-se falar de uma maior eficiência competitiva das estirpes 587, 29W e 566 reisoladas dos cerrados, selecionadas pela elevada competitividade.

Pode-se, ainda, conjecturar que, no decorrer dos anos, após sucessivos cultivos, células na população 566 parental, com os caracteres protéicos descritos, possam ter sido progressivamente selecionadas. Nessa ótica, após 15 anos, essas células apresentariam-se numericamente aptas para competir com a 29W e a 587. - *Maria Rita Scott Leitão, Edilson Paiva, Johanna Dobreiner.*

#### VARIABILIDADE PARA TEOR DE TANINO EM SORGO (*Sorghum bicolor* L.) E ASSOCIAÇÃO COM A RESISTÊNCIA A PÁSSAROS

O dano causado por pássaros é considerado uma das principais causas de redução na produção de sorgo em várias regiões do mundo. No Brasil, os pássaros causam prejuízos principalmente na região sul do país, onde a produção é condicionada, na maioria das vezes, à utilização de cultivares com alto teor de tanino no grão, para evitar o ataque de pássaros. A presença do tanino, no entanto, além de prejudicar a digestibilidade do sorgo, devido à sua capacidade de associar-se e precipitar as proteínas, também reduz a pa-

latabilidade da ração, devido à adstringência, causando, em consequência, um menor ganho de peso dos animais.

Considerando-se que o desejável é ter uma cultivar de sorgo que apresente alto teor de tanino no estágio de grão pastoso, quando os pássaros causam maior dano, e baixo teor na fase de colheita e, conseqüentemente, maior valor nutritivo, foi realizado o presente estudo, com o objetivo de verificar a variabilidade existente entre diversos materiais genéticos quanto ao teor de tanino e resistência a pássaros ao longo do desenvolvimento fisiológico do grão.

O experimento foi conduzido no CNPMS, em Sete Lagoas, MG, com semeadura em outubro de 1989. A extração de ação dos taninos foi realizada com água, metanol 50% e metanol PA e o doseamento pelo método de Folin-Denis.

O dano causado por pássaros foi avaliado por ocasião das coletas de amostra para análise no laboratório, sendo atribuídas notas às parcelas, conforme o grau de dano, utilizando-se a seguinte escala: 0: nenhum dano à parcela, 1: até 20% de dano à parcela, 2: de 20 a 40% de dano à parcela, 3: de 40 a 60% de dano à parcela, 4: de 60 a 80% de dano à parcela, 5: de 80 a 100% de dano à parcela.

O teor de tanino na matéria seca, ao longo do desenvolvimento fisiológico do grão, pode ser observado na Tabela 46. Nota-se que todos os materiais genéticos avaliados apresentaram, em geral, maior teor de tanino na fase de grão leitoso, decrescendo nas fases seguintes.

**TABELA 46.** Percentagem de tanino total na matéria seca nas fases de grão leitoso (GL), grão pastoso (GP), maturação fisiológica (MF) e fase de colheita (FC). CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1992.

Materiais Genéticos	Fases			
	GL	GP	MF	FC
CMSXS 101 A	2,48 a	1,24 b	0,99 b	0,72 b*
CMSXS 142 A	2,12 a	0,92 b	0,74 b	0,54 b
CMSXS 114 R	1,72 a	1,34 a	1,13 a	1,21 a
CMSXS 116 R	2,26 a	0,81 b	0,48 b	0,42 b
CMSXS 178 R	3,07 a	1,15 b	0,70 bc	0,49 c
CMSXS 180 R	3,00 a	0,87 b	0,54 b	0,39 b
CMSXS 181 R	4,99 a	1,56 b	0,98 bc	0,82 c
CMSXS 101 A X CMSXS 114 R	3,66 a	3,76 a	3,78 ab	2,88 b
CMSXS 101 A X CMSXS 116 R	2,92 a	1,02 b	0,64 b	0,60 b
CMSXS 101 A X CMSXS 178 R	2,29 a	0,81 b	0,73 b	0,59 b
CMSXS 101 A X CMSXS 180 R	2,86 a	1,23 b	0,89 bc	0,60 c
CMSXS 101 A X CMSXS 181 R	2,90 a	1,44 b	0,84 bc	0,70 c
CMSXS 142 A X CMSXS 114 R	2,25 a	2,82 a	2,31 a	2,32 a
CMSXS 142 A X CMSXS 116 R	2,05 a	1,14 b	0,51 c	0,40 c
CMSXS 142 A X CMSXS 178 R	2,58 a	1,28 b	0,68 bc	0,56 c
CMSXS 142 A X CMSXS 180 R	2,11 a	0,97 b	0,58 b	0,40 b
CMSXS 142 A X CMSXS 181 R	2,85 a	1,27 b	0,86 b	1,02 b
CMSXS 102 A X CMSXS 180 R	3,10 a	1,118 b	0,63 bc	0,44 c
BAG 2109	4,24 b	5,97 a	5,52 a	4,07 b
BAG 014	4,06 a	4,03 a	2,72 b	1,30 c
Contigração 111	2,49 a	1,82 b	1,59 bc	1,26 c
Savana 5	4,01 a	3,45 ab	2,83 b	1,70 c
DK 48	4,06 a	3,08 b	3,31 b	1,86 c
Pioneer B 815	3,32 a	2,37 b	2,29 b	1,63 c

\*Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.