

FIGURA 27. Representação esquemática das gels de agarose utilizadas na separação dos antígenos. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1986.

CARACTERIZAÇÃO IMUNOELETRORÉTICA DE ESPÉCIES E RAÇAS FISIOLÓGICAS DE *Azospirillum*

Um grande número de trabalhos estão sendo desenvolvidos com o objetivo de estudar fixações biológicas de N por microorganismos associados com raízes de gramíneas. Uma das maiores dificuldades nesse estudo está na caracterização dos diversos microorganismos envolvidos nessas associações. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a possibilidade de utilização de técnicas de imunoeletroforese na identificação de espécies e raças fisiológicas de *Azospirillum*, bactérias responsáveis pela fixação de quantidades significativas de N em associações com raízes de várias gramíneas.

A bactéria utilizada como fonte de antígeno para produção de anticorpos foi *A. brasilense* 245, multiplicada em meio-de-cultura líquido, sendo concentrada e purificada através de centrifugações diferenciais. Os anticorpos foram produzidos em coelhos. A separação dos diferentes antígenos foi feita por eletroforese, em GELS de 1% de agarose contendo anticorpos na sua porção superior, de acordo com esquema apresentado na Figura 27.

Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 28. Como pode ser observado nos padrões de precipitação obtidos, existe uma considerável heterogeneidade antigênica entre gêneros, espécies e mesmo entre raças fisiológicas de uma mesma espécie. Assim, anticorpos produzidos contra antígenos dessas bactérias podem vir a ser utilizados como sondas biológicas específicas para identificação e caracterização dessas bactérias, bem como sondas para monitorar a atividade das mesmas na rizosfera de plantas hospedeiras. - Edilson Paiva, Mônica E. Carvalho, Maria J.V.V.D. Peixoto

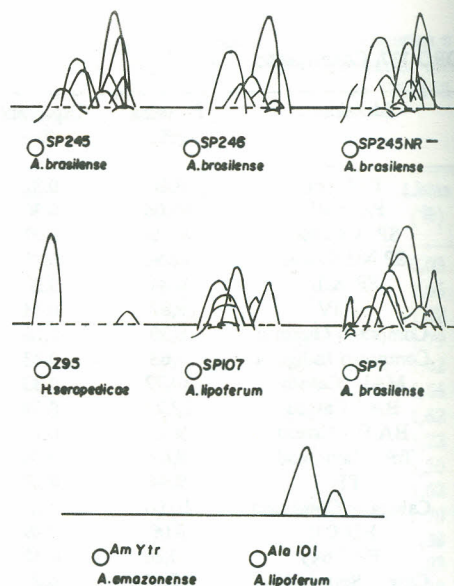


FIGURA 28. Separação imunoeletroforética de antígenos de diferentes gêneros, espécies e raças fisiológicas de bactérias que fixam N_2 em associação com gramíneas. CNPMS, Sete Lagoas, MG.

SELEÇÃO DE PROGÊNIES DE MILHO DOCE DE ALTO VALOR NUTRITIVO ATRAVÉS DE TÉCNICAS ELETRORÉTICAS

As proteínas encontradas no endosperma do grão de milho podem ser divididas em quatro classes, de acordo com sua solubilidade: albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas. As prolaminas, também conhecidas como zeínas, são as proteínas mais abundantes, chegando a atingir até 60% da proteína total do endosperma. Entretanto, as zeínas apresentam um baixo valor nutricional, pois são deficientes em aminoácidos essenciais, principalmente lisina e triptofano. Técnicas de fracionamento de proteínas e técnicas eletroforéticas têm mostrado que há mudanças no teor e no tipo de zeínas quando se comparam grãos de milho normal, de baixo valor nutritivo, com grãos de milho contendo genes mutantes (Opaco 2, "floury" 2 etc.), com teores elevados de lisina e triptofano.

O objetivo deste trabalho foi utilizar padrões protéicos específicos das zeínas, obtidos através de técnicas eletroforéticas, como ferramentas de auxílio à seleção em um programa de melhoramento genético de milho doce de alto valor nutritivo.

A variedade de milho doce BR 400, portadora do Gene Brittle-1 (alto teor de açúcar e proteína com elevados níveis de lisina e triptofano) foi cruzada com a população CMS 456 de ampla base genética, portadora do gene Opaco-2 associado a genes modificadores de endosperma. Plantas da geração F_1 foram autofecundadas e, de cada espiga, foram separados, utilizando um diafanoscópio, grãos normais com constituição genotípica ($O_2 O_2 Bt_1$). Esses grãos opacos com endosperma normal ($O_2 O_2 bt_1 bt_1$) foram plan-

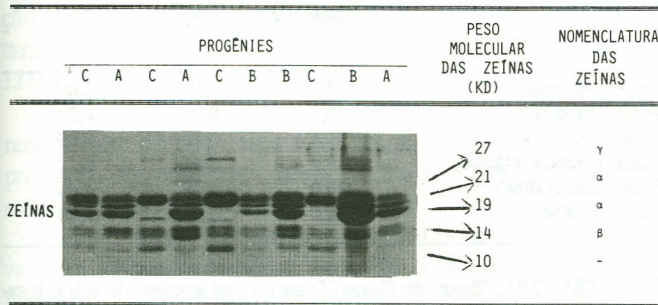


FIGURA 29. Padrões proteicos de dez progênies de constituição genotípica $O_2O_2btbt_1$ e fenótipo doce não opaco, obtidos por eletroforese em gel de acrilamida. As letras nas colunas classificam as progênies em três grupos, de acordo com o padrão proteico das zeínas. CNPMS, Sete Lagoas, MG. 1987.

tados e as plantas resultantes autofecundadas. Dessa autofecundação foram separadas 48 progênies com constituição genotípica ($O_2O_2btbt_1$) e fenótipo doce (Brittle 1) não opaco, resultante da presença de modificadores de endosperma para o Gene Opaco-2. Dessas progênies foram retiradas amostras (pequenos pedaços do endosperma dos grãos), as quais foram submetidas a análises eletroforéticas e análises quantitativas de lisina e triptofano.

Como pode ser observado na Figura 29, houve variabilidade entre as progênies quanto ao tipo e quantidade de zeínas presentes no endosperma dos grãos. Assim, baseando-se no padrão eletroforético das zeínas, foi possível reunir as progênies em três grupos distintos: grupo a - Progênies que apresentaram baixos teores de γ zeína (peso molecular 27 kD); grupo b - Progênies que apresentaram quantidades equivalentes de γ e α zeínas (pesos moleculares 27, 21 e 19 kD, respectivamente); grupo c - Progênies com altos teores de γ zeína e baixos teores de α zeínas (Figura 29).

Análises quantitativas mostram que os teores de lisina e triptofano foram mais altos nas progênies classificadas como grupo c, ou seja, aquelas que apresentaram altos teores de γ zeína e baixos teores de α zeínas (Quadro 138). A percentagem de lisina e triptofano na proteína do endosperma das progênies do grupo foram semelhantes àsquelas encontradas nos progenitores (BR 400, CMS 456). As progênies dos grupos a e b apresentaram baixos teores de lisina e triptofano, comparáveis aos de um milho comum (BR 106) utilizado como testemunha (Quadro 138).

Os resultados mostraram que padrões proteicos das ze-

ínas, obtidos através de técnicas eletroforéticas, podem ser empregados com sucesso como sondas biológicas em programas de melhoramento de milho de alta qualidade protéica. - Edison Paiva, Sidney N. Parentoni, Walter A. Rodrigues, Maria José V.V.D. Peixoto, Elto E.G. Gama.

QUADRO 138. Padrões eletroforéticos, percentagens de proteína¹ total do endosperma e percentagens de lisina e triptofano nessa proteína. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1987.

Progênies/ Cultivares	Padrão eletroforético (zeínas, γ e α) ¹	Proteína total do endosperma (%)	Lisina na proteína (%)	Triptofano na proteína (%)
Grupo a		15,3	1,9	0,39
Grupo b		15,9	1,9	0,38
Grupo c		14,6	3,1	0,68
BR 400		13,5	3,1	0,68
CMS 456		12,4	3,1	0,69
Doce Opaco		12,6	5,0	1,16
CMS 20 Opaco		8,6	4,1	0,92
BR 106		8,6	1,5	0,28

¹ Médias de 3 ou mais repetições.

CONTEÚDO E DISTRIBUIÇÃO DE GAMA-ZEÍNA NO ENDOSPERMA DE GRÃOS DE MILHO

Como já é conhecido, a baixa qualidade nutritiva do milho para alimentação de seres humanos e outros animais monogástricos é devido à pequena quantidade de lisina e triptofano presente na fração protéica do endosperma denominada zeína. Mutantes como opaco-2 e outros apresentam reduções no teor das zeínas com um aumento de outras frações protéicas mais ricas em lisina e triptofano, resultando num grão de alto valor nutritivo. Entretanto, esses mutantes apresentam características agrônômicas indesejáveis, como baixa produtividade, devido à diminuição da densidade dos

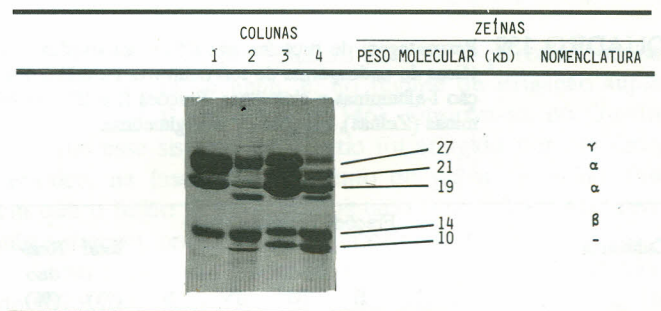


FIGURA 30. Gel de acrilamida mostrando a distribuição das diferentes classes de Zeína no endosperma de duas cultivares de milho. Colunas 1 e 2 cultivar Branco Dentado (QPM), 3 e 4 cultivar W64A (Normal). Colunas 1 e 3 parte mais dura, 2 e 4 parte mais mole do endosperma. CNPMS, Sete Lagoas, MG. 1987.