

**TABELA 39.** Avaliação do efeito "knock down" - KD<sup>1</sup>, através do tempo de exposição (em horas) do R (+) - Limoneno sobre 20 indivíduos das espécies *Rhizopertha dominica* e *Sitophilus oryzae*, insetos pragas de grãos armazenados. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1994.

Cineol <sup>2</sup>	<i>Rhizopertha dominica</i>							
	Papel de filtro				Grãos de trigo			
	1:00	3:00	6:00	24:00	1:00	3:00	6:00	24:00
10/0	20,0	19,7	17,3	15,7	20,0	20,0	20,0	20,0
8/2	13,0	18,3	15,0	12,0	19,7	20,0	20,0	20,0
6/4	17,7	10,3	6,0	3,3	18,7	19,7	20,0	20,0
4/6	17,3	4,7	1,3	1,3	17,3	18,7	19,7	19,7
2/8	2,0	0,0	0,0	0,0	17,3	17,7	18,3	16,3
1/9	0,0	0,0	0,7	0,3	13,3	6,3	8,0	2,3
0,5/9,5	0,0	0,0	0,3	0,3	11,0	6,3	4,7	1,0
0/10	0,0	0,0	0,0	0,0	13,0	5,3	3,7	1,3
Testemunha	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,3	1,0

### Continuação da TABELA 39

Cineol <sup>2</sup>	<i>Sitophilus oryzae</i>							
	Papel de filtro				Grãos de trigo			
	1:00	3:00	6:00	24:00	1:00	3:00	6:00	24:00
10/0	17,3	17,3	5,3	13,0	19,3	18,7	19,3	19,3
8/2	16,7	4,7	3,0	11,0	19,7	19,7	20,0	20,0
6/4	17,0	5,0	2,7	12,0	19,7	19,3	19,0	19,7
4/6	13,0	4,7	2,3	9,7	13,0	15,0	13,3	14,7
2/8	2,7	1,0	1,0	2,0	10,0	6,7	3,7	7,3
1/9	0,3	0,3	0,3	0,0	3,7	0,0	0,0	0,3
0,5/9,5	0,3	0,3	0,3	0,7	1,0	0,3	0,3	0,7
0/10	0,3	1,0	1,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Testemunha	0,0	0,3	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0

<sup>1</sup>"Knock down"-KD, ou seja, incapacidade de caminhar, com evolução para morte.

<sup>2</sup>A concentração de Limoneno foi medida em gotas e diluída em acetona, perfazendo um total de dez gotas, que é a quantidade de solução recomendada para o teste. Uma gota de Limoneno corresponde a 21,00 mg.

## BIOTECNOLOGIA

### CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E BIOQUÍMICA DE POPULAÇÕES INDÍGENAS DE MILHO QUE APRESENTAM GRÃOS OPACOS

A dureza dos grãos de milho é um importante parâmetro correlacionado diretamente com várias características agronômicas desejáveis e, normalmente, de maneira inversa à qualidade protéica. Vários mutantes com a estrutura do endosperma alterada têm sido caracterizados em milho, o que, além de ajudar a desvendar os mecanismos envolvidos na determinação da estrutura do endosperma, torna a síntese das zeínas um modelo interessante para o estudo da expressão gênica em organismos superiores.

Neste trabalho, foram caracterizadas onze populações indígenas de milho, comparando-as com genótipos normais, opaco-2 e QPM. Os parâmetros analisados foram: densidade dos grãos, qualidade protéica, concentração e padrão eletroforético das zeínas e não-zeínas, teor de açúcares solúveis no endosperma e padrão de restrição do gene da gama-zeína de 27 kD.

As populações indígenas de milho apresentaram grãos opacos e de baixa densidade, semelhantes aos dos mutantes opaco-2, e baixa qualidade protéica, como os genótipos normais (Tabela 40). A porcentagem de zeínas, não-zeínas e o teor de açúcares solúveis no endosperma das populações indígenas forem semelhantes aos dos genótipos normais (Tabela 40). Com relação à quantidade relativa da gama-zeína de 27 kD, as populações indígenas foram divididas em dois grupos distintos, um grupo apresentando níveis reduzidos e o outro, com níveis de proteína equivalentes aos dos materiais normais (Figura 25). O gene que codifica a gama-zeína de 27 kD nos milhos indígenas apresentou um polimorfismo de restrição, além da detecção de uma nova banda de aproximadamente 10 kb, em comparação com os demais genótipos (Figura 26).

Dos resultados obtidos, conclui-se que as populações indígenas não estão incluídas em nenhuma classe de mutantes até então descrita, podendo ser classificadas como um novo grupo de mutantes para a textura do endosperma, apresentando, portanto, grande potencial para a elucidação dos mecanismos bioquímicos e moleculares envolvidos na determinação da textura do endosperma do milho.

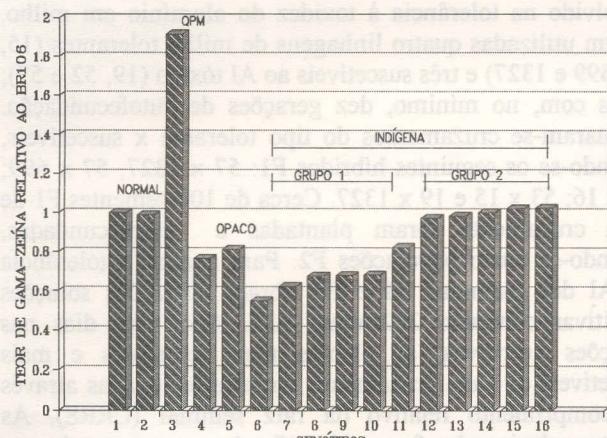
- Cláudia Teixeira Guimarães, Maria José Villaça Vasconcelos, Everaldo Gonçalves Barros, Edilson Paiva.

**TABELA 40.** Densidade dos grãos (em g/ml), qualidade protéica (em porcentagem de triptofano na proteína total), porcentagem de zeínas e não-zeínas, e teor de açúcares solúveis no endosperma dos milhos normais, opaco-2, indígenas e QPM. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1993.

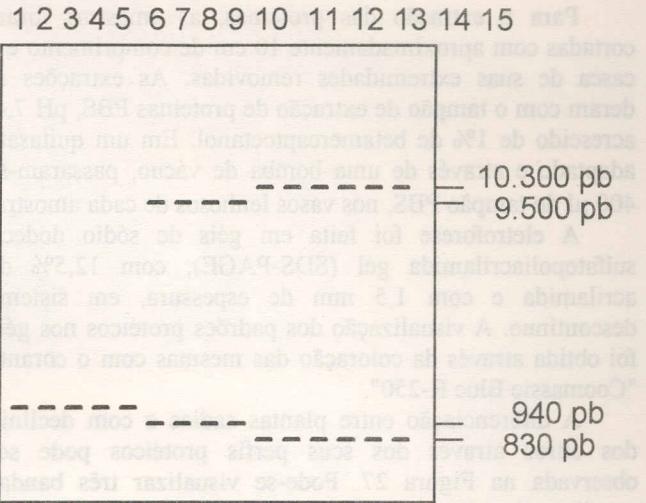
Genótipos	Densi-dade dos grãos	Quali-dade protéica	Zeínas	Não Zeínas	Açú-cares solúveis
BR 106 <sup>1</sup>	1,30 <sup>1</sup> a <sup>5</sup>	0,43 d	65,37 a	30,50 b	0,69
BR 201 <sup>1</sup>	1,28 a	0,52 cd	61,83 a	35,77 b	1,12
BR 451 <sup>4</sup>	1,27 a	0,79 b	41,30 b	52,40 a	0,72
IACo2-IV <sup>2</sup>	1,11 bc	1,21 a	36,13 b	56,30 a	0,94
UFVo2 <sup>2</sup>	1,14 bc	1,08 a	38,77 b	55,90 a	1,09
AC-81 <sup>3</sup>	1,09 bc	0,58 c	62,80 a	32,90 b	0,85
MT-1 <sup>3</sup>	1,10 b	0,56 cd	64,56 a	29,73 b	0,69
MT-10 <sup>3</sup>	1,09 bc	0,57 c	60,83 a	33,20 b	0,97
MT-24 <sup>3</sup>	1,08 bc	0,58 cd	65,37 a	33,53 b	1,13
BOL-I <sup>3</sup>	1,12 bc	0,55 cd	65,83 a	32,57 b	0,77
BOL-II <sup>3</sup>	1,11 bc	0,50 cd	63,63 a	29,30 b	0,81
MT-II <sup>3</sup>	1,12 bc	0,46 cd	62,23 a	30,53 b	0,71
MT-III <sup>3</sup>	1,15 b	0,43 d	65,90 a	28,73 b	0,85
N. U. <sup>3</sup>	1,07 c	0,51 cd	66,50 a	27,77 b	0,86
PR-1 <sup>3</sup>	1,15 bc	0,47 cd	63,70 a	29,93 b	0,81

<sup>1</sup>Normal; <sup>2</sup>Opaco-2; <sup>3</sup>Indígena; <sup>4</sup>QPM

<sup>5</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 1% de probabilidade.



**FIGURA 25.** Quantidade relativa da gama-zeína de 27 kD, obtida pela leitura de três géis de poliacrilamida no densitômetro a laser Ultroscan XL-2222 e padronizada em função da quantidade dessa proteína no BR 106, na sequência dos genótipos analisados: 1: BR106, 2: BR201, 3: BR 451, 4: IACo2-IV, 5: UFVo2, 6: AC-81, 7: MT-10, 8: Preto Chileno, 9: MT-1, 10: Nodzob Udza, 11: MT-24, 12: MT-II, 13: BOL-II, 14: MT-III, 15: BOL-I, 16: PR-1. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1993.



**FIGURA 26.** Padrão de RFLP do gene da gama-zeína de 27 kD, obtido pela restrição do DNA dos genótipos descritos na Figura 1, com a enzima EcoR-I e hibridizado com o fragmento δ ZM-5 marcado com digoxigenina via PCR. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1993.

## DETERMINAÇÃO PROTÉICA PARA O TESTE DE DIAGNÓSTICO DO DECLÍNIO DOS CITROS

O declínio dos citros, uma anormalidade de causa ainda desconhecida, é uma das doenças que mais causam prejuízo à citricultura brasileira, constituindo motivo de crescente preocupação de produtores e de pesquisadores. Os sintomas são, em geral, observados em pomares após cinco anos de idade. No entanto, isto não significa que somente plantas com mais de cinco anos sejam suscetíveis ao declínio dos citros.

Como é muito provável que essa doença seja causada por um agente infeccioso, visto que pode ser transmitida através da enxertia de raízes, o seu diagnóstico precoce poderá monitorar a erradicação de plantas infectadas no pomar, diminuindo a quantidade de inóculo na área e, consequentemente, o risco de disseminação da doença.

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver um teste sensível de diagnose que permita a detecção precoce de plantas com declínio dos citros, através de técnicas eletroforéticas, realizadas no Laboratório de Biologia Molecular do CNPMS. As amostras de raízes do portainxerto limoeiro Cravo, de plantas sadias e doentes, foram obtidas de pomares comerciais, situados nos municípios de Bebedouro, SP, e Alfenas, MG.