

por aspersão, utilizando-se as seguintes doses do ingrediente ativo do fungicida por hectare: 175 g; 1,6 kg; 350 g; 750 g, para bitertanol, maconzeb, benomyl e iprodione, respectivamente. As parcelas testemunhas, sem fungicidas, receberam um volume de água semelhante ao utilizado nas aplicações dos fungicidas. Cada parcela foi coberta por 4 aspersores setoriais ZED - 30, operando num setor de 90°, sendo cada linha lateral à parcela equipada com um aplicador portátil de produtos químicos.

Foram realizadas 4 aplicações de fungicidas, com uma área tratada de 144 m<sup>2</sup> e com intervalos de 7 a 10 dias, sendo utilizada uma lâmina média de água de 3,4 mm e o tempo de aplicação de 6 minutos. A pressão de funcionamento foi de 3,5 atm e a velocidade média do vento no decorrer das aplicações foi de 1,2 m/s.

Quando as plantas atingiram o final do enchimento dos grãos, procedeu-se à avaliação da infecção por *U. phaseoli*, empregando-se uma escala diagramática. Como o diagrama representa poucas porcentagens de infecção (5, 10, 20, 40, 65 e 100%), foram feitas interpolações. A escala diagramática está baseada no fato de que 100% de infecção corresponde a 8% da área foliar coberta com pústulas. Foi utilizada a escala diagramática que corresponde à reação de alta suscetibilidade. Assim, determinou-se a porcentagem de infecção de diversas plantas (folhas baixas, medianas e superiores), obtendo-se uma infecção média para cada planta, e para o cálculo da porcentagem geral de infecção da parcela empregou-se a seguinte fórmula:

$$\% \text{ infecção parcela} = \frac{\text{somatório (\% infecção plantas} \times \text{freqüência)}}{\text{número total de plantas}}$$

Os resultados para o índice de infecção por ferrugem (*Uromyces phaseoli* var. *typica*) e as produções de grãos dos tratamentos estão na Tabela 45, onde as médias dos tratamentos para índice de ferrugem indicam que o fungicida bitertanol foi o mais eficiente no controle da ferrugem do feijoeiro, demonstrando que a aplicação de fungicida via água de irrigação por aspersão é um método de grande viabilidade no controle de ferrugem do feijoeiro. - Nicésio Filadelfo Jansen de Almeida Pinto, Ênio Fernandes da Costa, Élcio Antônio Ribeiro.

## BIOTECNOLOGIA

### USO DE UM c/DNA DE GAMA-ZEÍNA MARCADO COM BIOTINA

Fragmentos de DNA estão sendo utilizados como sondas biológicas para uma série de estudos. Dentre eles, destacam-se: estudo de segregação, determinação do número de cópias de genes, mapeamento cromossômico e engenharia genética. O objetivo do presente estudo foi viabilizar o uso de sondas de DNA como marcadores genéticos via técnica de RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism).

Durante a execução do trabalho, foram implementadas e utilizadas metodologias de isolamento, purificação e quantificação de DNA genômico, clonagem em bactérias e vírus, marcação a frio com nucleotídeos biotinilados, digestão com enzimas de restrição e transferência e fixação de fragmentos de DNA em matriz sólida via processo de "Southern-Blot".

**TABELA 45.** Índices de infecção de ferrugem (*U. phaseoli* var. *typica*) em feijoeiro e produção de grãos oriundos da aplicação de fungicidas via água de irrigação por aspersão. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1992.

Fungicida	Índice de ferrugem <sup>1</sup>				Produção (kg/ha) <sup>2</sup>			
	I	II	III	Média	I	II	III	Média
Bitertanol	6,5	1,7	11,7	6,6	1.339,2	1.783,2	1.526,4	1.549,6
Maconzeb	31,2	13,5	16,7	20,5	1.252,8	1.197,6	1.262,4	1.237,6
Benomyl	39,0	13,2	28,7	26,9	1.029,6	2.016,0	1.027,2	1.357,6
Iprodione	43,0	42,5	40,5	42,0	1.048,8	1.152,0	842,4	1.014,4
Testemunha	62,0	47,0	47,5	52,2	1.051,2	1.281,6	931,2	1.088,0

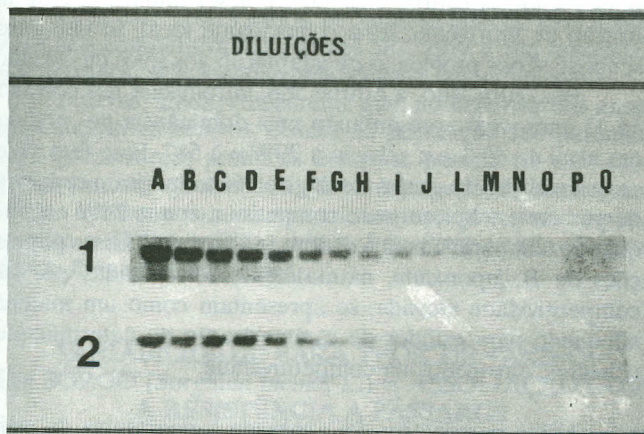
<sup>1</sup>Escala diagramática.

<sup>2</sup>Ajustamento para 240.000 plantas/ha e para 13% de umidade nos grãos.

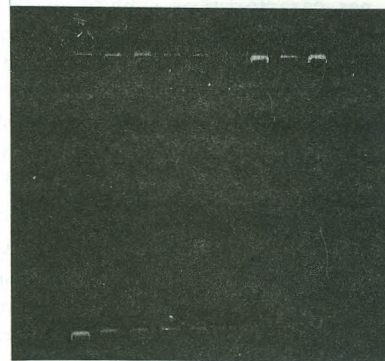


Na Figura 26, pode-se observar que a utilização do fragmento de DNA  $\Psi$ -ZM5 marcado com nucleotídeo contendo biotina (Biotina-11-dUTP) via "Nick-Translation" apresentou resolução que permitiu a visualização de 100 picogramas do fragmento alvo, imobilizado em membranas.

Na Figura 27 é apresentado o exemplo de um gel de agarose com oito padrões de DNA de alto peso molecular e de concentração conhecida, que foram utilizados para quantificar DNA genômico extraído de diferentes cultivares de milho e de cepas de *Rhizobium*. Estes e outros resultados já conhecidos mostram que as sondas de DNA marcadas com nucleotídeos não radiativos podem ser utilizadas com precisão como marcadores moleculares e que a metodologia para sua utilização é hoje uma realidade na EMBRAPA/CNPMS. - Manoel Teixeira Souza Júnior, Edilson Paiva.



**FIGURA 26.** Grau de resolução obtido com o uso do fragmento ZM5 marcado com Biotina-11-dUTP via "Nick-translation" (10; e com o uso de M13mp18 - ZM5 marcado com Biotina-11-dUTP via polimerização da fita sense 92). A a Q representam concentrações de ZM5 variando de 250 ng até 0,75 pg, obtidas por diluição em série. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1992.



**FIGURA 27.** Padrões de DNA de alto peso molecular utilizados para quantificação de DNA genômico por comparação visual. No alto, da direita para a esquerda, DNA de CMS 450, CMS 451, Dentado Composto F12, CMS 453, CMS 454, DNA de *Rhizobium* sp estirpes CIAT, SEMIA e CENA. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1992.

#### SELEÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ESTIRPES DE *Rhizobium* spp. ESTÁVEIS E EFICIENTES NA FIXAÇÃO DE NITROGÊNIO EM FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)

As estirpes de *Rhizobium* indicadas na inoculação do feijão não mantêm suas características originais relacionadas com a efetividade na fixação de  $N_2$ . Esta instabilidade genética é decorrente de perdas ou alterações dos plasmídeos (P sym) que carregam os gens da fixação de  $N_2$  e é agravada pelas temperaturas elevadas que normalmente ocorrem nos solos tropicais.

Visando selecionar estirpes de *Rhizobium* eficientes e estáveis na fixação de  $N_2$  em feijão, foram desenvolvidos experimentos para determinar a variabilidade de efetividade de fixação de  $N_2$ , bem como caracterizar o material protéico e DNA das estirpes de *Rhizobium* capazes de nodular feijão antes e após exposição a temperaturas elevadas.

Os resultados evidenciaram variabilidade na efetividade de fixação de nitrogênio, através de testes de redução de acetileno, em nódulos individuais dentro de uma mesma estirpe de *Rhizobium*, assim como diferenças nos níveis de tolerância a temperatura (35 a 39 °C) entre 21 estirpes testadas (*R. leguminosarum* bv. *phaseoli* - tipo I e *R. tropici* - tipo II). As estirpes mais tolerantes a temperatura (CIAT 899, CENA CO<sub>5</sub> II, CPAC H<sub>2</sub>O, CPAC H<sub>14</sub>, CPAC H<sub>35</sub> e Semia 476) após crescimento, duas vezes, até o final da fase logarítmica, em sua temperatura específica máxima de crescimento (38 ou 39 °C), foram inoculadas em feijão e comparadas com seus pares originais. Aparentemente não ocorreram alterações