



Instituto Politécnico  
de Castelo Branco

**Instituto Politécnico de Castelo Branco**

Nuno, Heliodoro Maurício

## **Caracterização isoenzimática de clones de azevinho (*Ilex aquifolium* L.)**

<https://minerva.ipcb.pt/handle/123456789/1642>

### **Metadados**

<b>Data de Publicação</b>	1997
<b>Resumo</b>	Com este trabalho pretendeu-se encontrar polimorfismos, por electroforese de isoenzimas, que permitam identificar 24 clones e 2 cultivares de azevinho ( <i>Ilex aquifolium</i> L.), nomeadamente as cultivares “Ferox aurea” e “Aureo marginata”. Os zimogramas foram obtidos por dois tipos de electroforese, a electroforese de zona em tampão descontínuo, na qual se utilizou a electroforese em sistema horizontal e a electroforese em sistema vertical (sistema convencional), em gel de poliacrilamida e a focagem ...
<b>Tipo</b>	report
<b>Revisão de Pares</b>	Não
<b>Coleções</b>	ESACB - Engenharia de Produção Florestal

Esta página foi gerada automaticamente em 2024-05-04T06:40:11Z com  
informação proveniente do Repositório



**ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA**  
**INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO**

**CARACTERIZAÇÃO ISOENZIMÁTICA DE CLONES  
DE AZEVINHO ( *Ilex aquifolium* L. )**

**ENG<sup>a</sup> DE PRODUÇÃO FLORESTAL**

Relatório do Trabalho de Fim de Curso

**Heliodoro Maurício Nuno**



**CASTELO BRANCO**

**1997**

# ÍNDICE

Resumo .....	iv
Abstract .....	v
Abreviaturas .....	vi
Lista de Figuras .....	vii
Lista de Quadros .....	ix
<b>A. INTRODUÇÃO</b> .....	2
<b>I - O azevinho</b> .....	2
1- Considerações gerais acerca da espécie .....	2
1.1 - Caracterização botânica .....	2
1.2 - Área de distribuição, valor ecológico e económico .....	3
<b>II - As isoenzimas na caracterização de material vegetal</b> .....	6
1 - Considerações gerais .....	6
2 - Características das isoenzimas .....	8
3 - Interpretação genética dos zimogramas .....	9
4 - Marcadores genéticos e estudo de características de interesse florestal .....	12
5 - As isoenzimas na identificação varietal .....	14
5.1 - Estabilidade ambiental .....	15
5.2 - Variação intervarietal .....	15
5.3 - Variação intravarietal .....	16
6 - Factores laboratoriais afectantes dos resultados .....	17
7 - Isoenzimas no género <i>Ilex</i> .....	17
<b>III - Electroforese</b> .....	18
1 - Electroforese de zona contínua (CZE) .....	19
2 - Electroforese de zona em tampão descontínuo (MZE) .....	20
3 - Focagem isoelectrica (IEF) .....	21
<b>IV - Objectivos do trabalho</b> .....	22

<b>B. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	24
<b>I - Materiais</b> .....	24
1 - Material biológico .....	24
2 - Equipamento .....	24
3 - Reagentes .....	24
<b>II - Métodos</b> .....	25
1- Extração das isoenzimas .....	25
2 - Electroforese de zona em tampão descontínuo .....	26
2.1 - Electroforese em sistema horizontal .....	26
2.2 - Electroforese em sistema vertical (sistema convencional) .....	28
2.2.1- Preparação do gel de poliacrilamida .....	28
2.2.2- Preparação das amostras proteicas .....	28
2.2.3- Deposição das amostras e migração electroforética .....	29
3 - Focagem isoelectrica .....	29
4 - Detecção das isoenzimas .....	30
5 - Fixação e preservação dos géis .....	31
<b>C. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	34
<b>I - Determinação e optimização das condições experimentais</b> .....	34
1 - Electroforese em sistema horizontal .....	36
1.1 - Álcool desidrogenase, chiquimato desidrogenase, fosfatase ácida, glutamato desidrogenase e malato desidrogenase .....	36
1.2 - Peroxidase .....	36
1.3 - Esterase .....	37
2 - Electroforese em sistema vertical (sistema convencional) .....	37
2.1 - Peroxidase .....	37
2.2 - Esterase .....	38
2.3 - Álcool desidrogenase, chiquimato desidrogenase, fosfatase ácida, glicerol-3-fosfato desidrogenase, glucose-6-fosfato desidrogenase, glutamato desidrogenase e malato desidrogenase .....	39
2.4 - Nitrato de prata .....	39

<b>II - Detecção de polimorfismos isoenzimáticos</b> .....	39
1 - Electroforese em sistema horizontal .....	41
1.1 - Esterase .....	41
1.1.1 - Folha .....	41
1.2 - Peroxidase .....	44
1.2.1 - Folha .....	44
1.2.2 - Caule .....	46
2 - Electroforese em sistema vertical (sistema convencional) .....	48
2.1 - Esterase .....	48
2.1.1 - Folha .....	48
2.1.2 - Caule .....	49
2.2 - Peroxidase .....	52
2.2.1 - Folha .....	52
2.2.2 - Caule .....	53
<b>III - Detecção de polimorfismos com coloração com nitrato de prata</b> .....	56
<b>D. CONCLUSÕES</b> .....	59
<b>E. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	67
<b>F. ANEXOS</b>	

## RESUMO

Com este trabalho pretendeu-se encontrar polimorfismos, por electroforese de isoenzimas, que permitam identificar 24 clones e 2 cultivares de azevinho (*Ilex aquifolium* L.), nomeadamente as cultivares “Ferox aurea” e “Aureo marginata”. Os zimogramas foram obtidos por dois tipos de electroforese, a electroforese de zona em tampão descontínuo, na qual se utilizou a electroforese em sistema horizontal e a electroforese em sistema vertical (sistema convencional), em gel de poliacrilamida e a focagem isoelectrica. Utilizaram-se extractos de tecidos de caules (tecidos exteriores ao cambio vascular), retirados por incisão anelar e folhas com alguns meses de idade.

As análises foram realizadas para os sistemas enzimáticos: álcool desidrogenase (ADH), chiquimato desidrogenase (SKD), esterase (EST), fosfatase ácida (ACP), glicerol-3-fosfato desidrogenase (G3PDH), glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH), glutamato desidrogenase (GDH), malato desidrogenase (MDH) e peroxidase (PRX). Apenas se conseguiram obter resultados satisfatórios com os sistemas enzimáticos da esterase (EST) e da peroxidase (PRX), a partir dos quais foi possível distinguir e identificar todos os clones e cultivares estudados.

Com a coloração com o nitrato de prata (detecção de polimorfismos através da proteína total) foi possível distinguir e identificar a cultivar “Ferox aurea” relativamente à cultivar “Aureo marginata” e aos clones 8, 9, 10, 12, 26 e 27, que apresentam o mesmo padrão de bandas.

Verificou-se que o padrão isoenzimático varia com o estado de desenvolvimento do material recolhido, e também de acordo com o período do ano.

Dos sistemas enzimáticos estudados a peroxidase foi aquela que apresentou maiores vantagens, já que permite obter maior discriminação entre os clones e cultivares.