



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

**CONTRIBUIÇÃO PARA A IDENTIFICAÇÃO
DE VARIEDADES DE OLIVEIRA
ATRAVÉS DA DETECÇÃO DE
POLIMORFISMOS ISOENZIMÁTICOS**

Engenharia de Produção Agrícola

Relatório do Trabalho de Fim de Curso

Maria de Lurdes Vidal Pereira

—◆—
CASTELO BRANCO

1999

Índice

Resumo	
Abstract	
Abreviaturas	
Lista de figuras	
Lista de tabelas	
I – Introdução	1
1 – Aspectos gerais da olivicultura	2
1.1 – Olivicultura no mundo	2
1.2 – Olivicultura nacional	2
1.3 – Caracterização botânica	3
2 – Electroforese	4
2.1 – Considerações gerais	4
2.2 – Electroforese de zona descontínua (MZE)	5
3 – As isoenzimas na caracterização de material vegetal	7
3.1 – Considerações gerais	7
3.2 – Características das isoenzimas	8
3.3 – Interpretação genética dos zimogramas	10
3.4 – Áreas de estudo	13
3.4.1 – <i>Como marcadores genéticos</i>	13
3.4.2 – <i>As isoenzimas na identificação varietal</i>	14
3.4.3 – <i>Na Sistemática e evolução</i>	17
3.5 – Factores laboratoriais que afectam os resultados das isoenzimas	17
3.6 – Isoenzimas na espécie <i>Olea europaea</i>	18
4 – Objectivos do trabalho	19

II – Material e métodos	20
1 – Materiais	20
1.1 – Material Biológico	20
1.2 – Equipamentos	20
1.3 – Reagentes	20
2 – Métodos	21
2.1 – Extracção das isoenzimas	21
2.2 – Electroforese	22
2.2.1 – <i>Electroforese de zona em tampão descontínuo</i>	22
2.3 – Detecção de isoenzimas	23
2.4 – Fixação e preservação dos géis	25
III – Resultados e discussão	26
1 – Determinação e optimização das condições experimentais	26
2 – Electroforese de isoenzimas da folha e detecção de polimorfismos	26
2.1 – Esterase	26
2.2 – Fosfatase ácida	27
2.3 – Malato desidrogenase	28
2.4 – Peroxidase	28
3 – Electroforese de isoenzimas do pólen e detecção de polimorfismos	29
IV – Considerações finais	30
Referências bibliográficas	31
Anexos	

RESUMO

Com este trabalho pretendeu-se detectar polimorfismos isoenzimáticos com o objectivo principal de identificar variedades de oliveira (*Olea europaea* L). Foram realizadas análises de isoenzimas por electroforese descontínua em gel de poliacrilamida (PAGE), em aparelho PhastSystem™ da firma Pharmacia.

Foram estudadas nove variedades de oliveira (Galega, Bical, Cordovil, Azeiteira, Manzanilha, Picual, Cobrançosa, Conserva de Elvas e Cordovil de Serpa).

Numa fase inicial pretendeu-se definir para os tecidos da folha e do pólen as condições experimentais, que permitissem lidar com o maior número de bandas polimórficas.

A identificação varietal foi realizada através do estudo dos seguintes sistemas enzimáticos: esterase (EST), fosfatase ácida (ACP), malato desidrogenase (MDH) e peroxidase (PRX).

No pólen foi possível detectar actividade isoenzimática para malato desidrogenase, a qual apresenta uma banda monomórfica. No caso da folha foram detectadas bandas polimórficas para a esterase e para a fosfatase ácida. Tendo sido possível distinguir dois padrões isoenzimáticos característicos em cada uma das enzimas atrás referidas. Os zimogramas de peroxidase apresentam duas bandas monomórficas, no caso da malato desidrogenase apenas uma banda.

Palavras-chave: *Olea europaea*, electroforese, isoenzimas, polimorfismos isoenzimáticos, esterase (EST), fosfatase ácida (ACP), malato desidrogenase (MDH) e peroxidase (PRX).