



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

**ESTUDO DE IDENTIFICAÇÃO DE VARIEDADES
DE OLIVEIRA (*Olea europaea* L.) POR
ELECTROFORESE DE ISOENZIMAS**

Engenharia de Produção Agrícola
Relatório do Trabalho de Fim de Curso

Sandra Maria Velez de Sousa Zuzarte

CASTELO BRANCO

1999

ÍNDICE

Resumo	v
Abstract	vi
Abreviaturas	vii
Lista de Figuras	viii
Lista de Quadros.....	xv
A- Introdução.....	1
I- A oliveira.....	1
1- Considerações gerais acerca da oliveira	1
2- Caracterização botânica e importância económica.....	1
II- As isoenzimas na caracterização de material vegetal	3
1- Considerações gerais	3
2- Características das isoenzimas.....	4
3- Interpretação genética dos zimogramas.....	5
4- As isoenzimas como marcadores genéticos.....	8
5- As isoenzimas na identificação varietal	9
5.1- Estabilidade face ao meio ambiente.....	9
5.2- Variação intervarietal	10
5.3- Variação intravarietal.....	10
6- Factores laboratoriais afectantes dos resultados	11
7- Isoenzimas na espécie <i>Olea europaea</i> L	11
III- Electroforese.....	12
1- Considerações gerais	12
2- Electroforese de zona contínua (CZE)	13
3- Electroforese de zona em tampão descontínuo (MZE)	14
4- Focagem isoeléctrica (IEF)	15
IV- Objectivos do trabalho	16
B- Material e Métodos.....	17
I- Materiais.....	17
1- Material biológico	17
2- Equipamento.....	17

3- Reagentes.....	18
II- Métodos	18
1- Extracção das isoenzimas.....	18
2- Electroforese.....	19
2.1- Electroforese de zona em tampão descontínuo (MZE).....	19
2.2- Focagem isoeléctrica (IEF).....	20
3- Detecção das isoenzimas.....	21
4- Fixação e preservação dos géis.....	22
C- Resultados e Discussão	23
I- Determinação e optimização das condições experimentais	23
1- Electroforese em sistema horizontal.....	23
1.1- Esterase.....	23
1.2- Peroxidase.....	24
1.3- Fosfatase ácida.....	25
II- Análises comparativas	25
1- Estudo comparativo dos padrões de expressão nos órgãos folha e pólen.....	25
2- Detecção de polimorfismo isoenzimáticos.....	27
2.1- Esterase.....	27
D- Considerações finais	30
Referências Bibliográficas	31
Anexos	

Resumo

Com o objectivo de avaliar a variabilidade inter e intravarietal através da detecção de polimorfismo isoenzimáticos, foram estudadas populações de oliveira (*Olea europaea* L.), das variedades Galega, Bical e Cordovil da região de Castelo Branco. Foram realizadas análises de isoenzimas por electroforese descontínua em gel de poliacrilamida (PAGE) e focagem isoeléctrica, em aparelho Phastsystem® da firma Pharmacia.

Foram estudados três sistemas enzimáticos: Esterase (EST), Peroxidase (PRX) e Fosfatase ácida (ACP). Como material vegetal de análise utilizaram-se folhas e pólen, tendo sido estudadas diferentes soluções de extracção.

Nas folhas foi detectada actividade para os sistemas PRX, EST e ACP. No pólen detectou-se actividade para os três sistemas, contudo devido à baixa expressão de PRX e ACP, foram realizados estudos comparativos apenas para o sistema Esterase.

Nas árvores estudadas não foi detectada variabilidade intravarietal. Os resultados obtidos com o sistema enzimático Esterase, permitem a identificação das três variedades. Os resultados obtidos são apresentados na forma de zimogramas e diagramas, comparando-se as diferentes variedades com base na presença ou ausência de bandas.