



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

**IDENTIFICAÇÃO DE VARIEDADES
DE MACIEIRA (*Malus doméstica* BORKH)
POR ELECTROFORESE DE ISOENZIMAS**

Eng^a. de Produção Agrícola

Relatório do Trabalho de Fim de Curso

Teresa Paula Lucas Taborda



CASTELO BRANCO

1996

ÍNDICE

Resumo.....	v
Abstract.....	vi
Abreviaturas.....	vii
Lista de figuras.....	viii
Lista de Quadros.....	ix
1. - INTRODUÇÃO.....	1
2. - CONSIDERAÇÕES GERAIS ACERCA DA ESPÉCIE <i>Malus domestica</i>	2
2.1 - Caracterização botânica e importância económica.....	2
3 - AS ISOENZIMAS NA CARACTERIZAÇÃO DE MATERIAL VEGETAL.....	4
3.1 - Considerações gerais.....	4
3.2 - Características das isoenzimas.....	5
3.3 - Interpretação genética dos zimogramas.....	6
3.4 - As isoenzimas como marcadores genéticos.....	9
3.5 - As isoenzimas na identificação varietal.....	10
3.5.1 - Estabilidade face ao meio ambiente.....	10
3.5.2 - Variação intervarietal.....	11
3.5.3 - Variação intravarietal.....	12
3.6 - Factores laboratoriais afectantes dos resultados.....	13
3.7 - Isoenzimas na espécie <i>Malus domestica</i>	13
3.8 - Electroforese.....	14
3.8.1. - Electroforese de zona continua (CZE).....	15
3.8.2 - Electroforese de zona em tampão descontínuo (MZE).....	16
3.8.3 - Focagem Isoeléctrica (IEF).....	17
4 - MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.1 - Materiais.....	19
4.1.1 - Material Biológico.....	19
4.1.2 - Equipamento.....	20
4.1.3 - Reagentes.....	20

4.2 - Métodos.....	20
4.2.1 - Extracção das isoenzimas.....	20
4.2.2 - Electroforese.....	21
4.2.2.1 - Electroforese de zona em tampão descontínuo	21
4.2.2.2 - Focagem isoeléctrica	21
4.2.3 - Detecção das isoenzimas.....	22
4.2.4 - Fixação e preservação dos géis.....	22
4.2.5 - Cálculo da posição relativa de cada banda.....	23
5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
5.1 - Detecção de polimorfismos isoenzimáticos.....	24
5.1.1 - Peroxidase	24
5.1.2 - Fosfatase ácida	27
6. - CONCLUSÕES.....	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
ANEXOS	

RESUMO

Com este trabalho pretendeu-se encontrar polimorfismos, por electroforese de isoenzimas, que permitam identificar três variedades tradicionais e duas cultivares exóticas de macieira (*Malus domestica* Borkh).

No total estudaram-se 24 indivíduos das variedades tradicionais Bravo de Esmolfe, Camoesa e Melápio, e das cultivares exóticas Erovan e LysGolden.

Os zimogramas foram obtidos por electroforese de zona descontínua, em gel gradiente de poliacrilamida e por focagem isoeléctrica, tendo-se utilizado extractos de tecidos de caules com um ano - tecidos exteriores ao câmbio vascular, retirados por incisão anelar.

As análises foram conduzidas para os sistemas enzimáticos fosfatase ácida (ACP) e peroxidase (PRX), tendo sido realizada a detecção enzimática num único passo.

Os zimogramas do caule de PRX apresentam um total de 18 bandas diferentes 6 das quais são polimórficas. Contudo, apenas é possível definir para o material estudado dois padrões isoenzimáticos diferentes. Sendo um padrão característico da cultivar Erovan e o segundo das três variedades tradicionais e da cultivar LysGolden.

Não foi observada variabilidade intravarietal significativa. Verificou-se que os padrões de bandas se mantêm constantes em diferentes períodos do ano, o que valoriza a técnica na identificação varietal.

Nos zimogramas de ACP foi observada actividade isoenzimática, embora as bandas nos zimogramas sejam muito ténues. Tal dificultou a interpretação dos resultados, pelo que não se realizaram estudos comparativos para este sistema enzimático.