

# VARIABILIDADE DAS ISOPEROXIDASES EM PORTA-ENXERTOS DE PEREIRA (*PYRUS CALLERYANA* DCNE E *P. BETULAEFOLIA* BUNGE)<sup>1</sup>

ELIANE AUGUSTIN, BONIFACIO H. NAKASU<sup>2</sup> e CARLOS ALBERTO ELY MACHADO<sup>3</sup>

**RESUMO** - Compararam-se peroxidases da casca de ramos de porta-enxertos de *Pyrus calleryana* Dcne e *P. betulaefolia* Bunge através de eletroforese em gel de poliacrilamida. Sete bandas foram detectadas em cada espécie. Foram encontrados em *P. calleryana* três padrões eletroforéticos, diferenciados pela presença, ausência ou presença de duas bandas (M.R. = 0,77 e 0,82). A existência das bandas de M.R. 0,49 e 0,51 ou das bandas 0,54 e 0,56, ou das quatro bandas, permitiu a diferenciação de três padrões característicos em *P. betulaefolia*. A análise das isoperoxidasas no clone XII indica a ocorrência provável de hibridização interespecífica, dada a presença de bandas comuns às duas espécies. A variabilidade encontrada evidencia ainda a necessidade de seleção ou da correta identificação dos porta-enxertos para plantação de pomares de pereira mais homogêneos.

Termos para indexação: *Pyrus communis*, peroxidase, esterase, fosfatase ácida.

## ISOPEROXIDASE VARIABILITY IN PEAR ROOTSTOCKS (*PYRUS CALLERYANA* DCNE AND *P. BETULAEFOLIA* BUNGE)

**ABSTRACT** - Shoot bark peroxidases of *Pyrus calleryana* Dcne and *P. betulaefolia* Bunge rootstocks were compared by polyacrylamide gel electrophoresis. Seven bands were detected in each one of the species. Three electrophoretic patterns were found in *P. calleryana*, which were differentiated by presence, absence or presence of two bands (R.M. values = 0.77 and 0.82). The presence of bands of R.M. 0.49 and 0.51, or bands of R.M. 0.54 and 0.56 or of these four bands allowed to distinguish three patterns in *P. betulaefolia*. Isoperoxidase analysis of clone XII indicates the occurrence of probable interspecific hybridization, due to the presence of common bands to both species. Variability found emphasizes the need of rootstock selection and identification to establish uniform pear orchards.

Index terms: *Pyrus communis*, peroxidase, esterase, acid phosphatase.

## INTRODUÇÃO

A pereira (*Pyrus communis* L.) é cultivada principalmente nos estados do Sul do Brasil, em quantidade ainda insuficiente para o abastecimento pleno do seu mercado consumidor. Observa-se interesse crescente na cultura, embora esta ainda apresente diversos problemas, entre os quais a indefinição de porta-enxertos. Plantas de sementes e estacas enraizadas de pereiras híbridas - como a "Kieffer" -, e marmeleiros, vinham sendo usados como porta-enxertos sem muito su-

cesso. A "Kieffer" produzindo plantas vigorosas demais, e os marmeleiros, produzindo plantas sem boa ancoragem e incompatíveis com muitas cultivares copa. A homogeneidade, além da perfeita identificação dos porta-enxertos nos pomares, é essencial para facilitar a formação de plantas uniformes visando facilitar os tratos culturais e determinando, em consequência, aumento da produtividade das pereiras.

A heterogeneidade constatada nos porta-enxertos de sementes pertencentes às espécies de *Pyrus calleryana* Dcne e *P. betulaefolia* Bunge, via de regra utilizados na instalação dos novos pomares estabelecidos em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul, levou à análise da variabilidade isoenzimática do material existente no pomar de matrizes da EMBRAPA/CNPFT.

A eficiência do uso de padrões eletroforéticos

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 8 de setembro de 1992.

<sup>2</sup> Eng.-Agr., Ph.D., EMBRAPA/CNPFT, Caixa Postal 403, CEP 96001-970 Pelotas, RS. Bolsista do CNPq.

<sup>3</sup> Eng.-Agr., M.Sc., EMBRAPA/CNPV, Caixa Postal 130, CEP 95700-000 Bento Gonçalves, RS.

na identificação de porta-enxertos de maçã já foi comprovada por Menéndez et al. (1986), Vinterhalter & James (1983) e Nakasu et al. (1991). Menéndez & Daley (1986), referindo-se ao potencial desta técnica na identificação de dez espécies de *Pyrus*, haviam destacado sua importância na caracterização do germoplasma desta espécie. Das onze introduções de *P. calleryana* analisadas, nove foram distinguidas através dos padrões de peroxidase, esterase e fosfatase ácida, enquanto que somente duas os apresentavam similares. Santamour & Demuth (1980) também encontraram polimorfismo em zimogramas de peroxidase de *P. calleryana*, permitindo a diferenciação de seis cultivares.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram coletadas, em 1988 e 1989, em duas plantas dos clones D6 e XII, e em 87, de *P. calleryana* e 70 de *P. betulaeifolia* obtidas através de sementes, introduzidas de Oregon e de Washington, EUA, e de São Joaquim, SC, mantidas no campo experimental do CNPFT, Pelotas, RS. Em cada ano, foram analisadas duas amostras por conjunto de plantas.

Foram utilizados, em cada amostra, extratos de 10 mg de casca dos ramos da brotação do ano, obtidos pela maceração com bastão de vidro em placas de porcelana escavadas, em tampão, tris-citríco: lítio-borato

(proporção 9:1, pH 8,3) (Scandalios 1969), acrescido de 0,15% de mercaptoetanol, na proporção de 1:2. Os extratos foram submetidos à absorção em papel Whatman 3 mm, de 4 x 1,5 mm.

Na obtenção dos eletroferogramas utilizou-se a técnica de eletroforese horizontal em gel com 5% de poli-acrilamida e o sistema de tampões descontínuo descrito por Scandalios (1969). As isoenzimas de peroxidase foram estudadas empregando-se, para a resolução dos géis, a técnica descrita por Machado et al. (1986).

As migrações eletroforéticas foram feitas com a diferença de potencial mantida ao redor de 10 v/cm, até que o fronte formado pelos tampões e marcado pelo azul de bromofenol, atingisse nove centímetros do ponto de aplicação.

As mobilidades relativas (M.R.) foram calculadas tomando-se uma banda comum a todas amostras como padrão.

## RESULTADOS E CONCLUSÕES

Nas plantas de *P. calleryana* foram encontradas sete isoperoxidasas de M.R. 1,06; 1,00; 0,82; 0,77; 0,56; 0,54 e 0,38, todas monomórficas, à exceção das de M.R. 0,82 e 0,77. As últimas foram detectadas em 42 plantas, enquanto que a banda 0,82 foi encontrada em trinta e uma, e a banda 0,77, apenas em 14 plantas (Fig. 1). Estes resultados sugerem que estas plantas provavelmente sejam geração filial de única cultivar, à

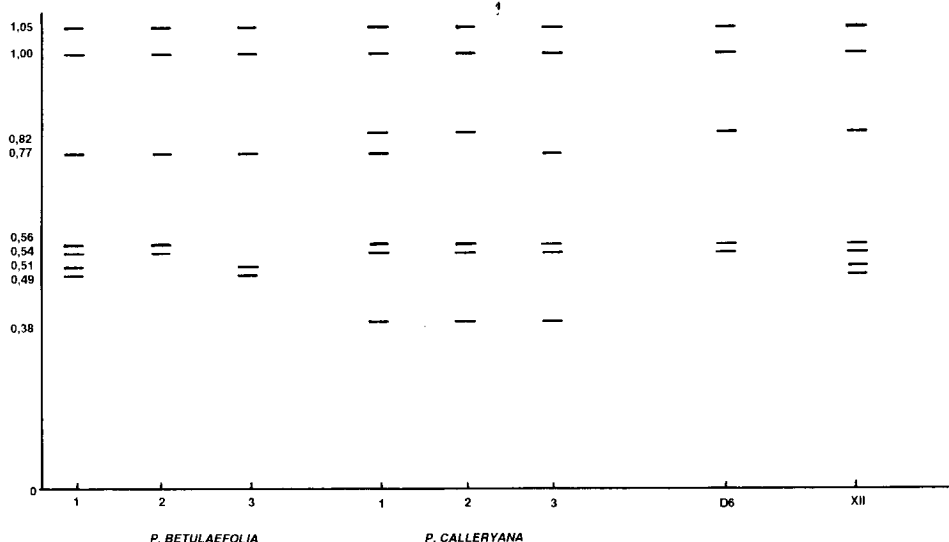


FIG. 1. Padrões isoenzimáticos de peroxidase de casca de ramos do ano de porta-enxertos de pereira.

semelhança do que foi observado por Santamour & Demuth (1980), pela análise dos padrões de isoperoxidases de plantas de viveiro comercializadas, como da cultivar Bradford, considerada resistente a "fire blight", e que, entretanto, apresentavam sintomas da doença.

Nos padrões eletroforéticos das plantas de *P. betulaefolia* também foram encontradas sete bandas, respectivamente com M.R. 1,06; 1,00; 0,77; 0,56; 0,54; 0,51 e 0,49. Todas apresentavam as três bandas de maior mobilidade relativa, mas encontrou-se variação em relação às de M.R. 0,56; 0,54; 0,51 e 0,49. As duas primeiras foram detectadas em 24 plantas, as duas últimas em treze plantas e às quatro bandas, simultaneamente, em 33 plantas (Fig. 1).

O clone D6 apresentou um padrão isoenzimático semelhante ao de *P. calleryana*, com a variante rápida (bandas de M.R. 1,06; 1,00; 0,82; 0,56 e 0,54). Não foi constatada, porém, a presença da banda 0,38, possivelmente devido à baixa concentração da isoenzima no material no tecido analisado.

No clone XII, por sua vez, encontrou-se outro padrão totalmente diferente dos demais, com bandas comuns às duas espécies, o que sugere que ele pode ser decorrente de hibridização interespecífica.

### CONCLUSÃO

Os padrões encontrados permitem concluir que existe variabilidade nas isoperoxidases dos porta-enxertos analisados, sugerindo haver necessidade de perfeita seleção e identificação clonal para posterior distribuição a produtores e viveiristas.

### AGRADECIMENTOS

A Ema Gladis Schultz Correa, pelo apoio na realização dos zimogramas.

### REFERÊNCIAS

- MACHADO, C.A.E.; NAKASU, B.H.; OLIVEIRA, E.A.; KERSTEN, E. Padrões isoenzimáticos de superóxido-dismutase de alguns genótipos de pessegueiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.21, n.11, p.1185-1192, 1986.
- MENENDEZ, R.A.; DALEY, L.S. Characterization of *Pyrus speciosus* and cultivars using gradient polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Environmental Horticulture*, v.4, n.2, p.56-60, 1986.
- MENENDEZ, R.A.; LARSEN, E.; FRITTS JUNIOR, R. Identification of apple rootstock cultivars by isozyme analysis. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v.111, n.6, p.933-937, 1986.
- NAKASU, B.H.; AUGUSTIN, E.; MACHADO, C.A.E. Identificação de cultivares de porta-enxertos de macieira *Malus* sp., através de padrões isoenzimáticos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.13, n.2, p.123-128, 1991.
- SANTAMOUR, F.S.; DEMUTH, P. Identification of Callery pear cultivars by peroxidase isozyme patterns. *Journal of Heredity*, v.71, p.447-448, 1980.
- SCANDALIOS, J.G. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. *Biochemical Genetics*, v.3, p.37-79, 1969.
- VINTERHALTER, D.V.; JAMES, D.J. The use of peroxidase polymorphism in the identification of apples scion cultivars. *Scientia Horticulturae*, v.18, p.253-261, 1983.