

NOTAS CIENTÍFICAS

CARACTERIZAÇÃO DE CLONES DE ACEROLA (*MALPIGHIA GLABRA L.*) ATRAVÉS DOS SISTEMAS ISOENZIMÁTICOS PEROXIDASE-ESTERASE¹

NARA SUZY AGUIAR DE FREITAS², HÉLIO ALMEIDA BURITY³,
JOÃO EMMANUEL FERNANDES BEZERRA⁴ e MÁRCIA VANUSA DA SILVA⁵

RESUMO - Os trabalhos de melhoramento de fruteiras vem utilizando a genética-bioquímica na caracterização de materiais propagados vegetativamente. A análise isoenzimática permite uma avaliação adequada no reconhecimento de acessos com o mesmo genótipo e, na medida do possível, as variações genéticas que ocorram na coleção, e permite verificar se a coleção está geneticamente bem representada. Este trabalho teve por objetivo demonstrar a utilização da análise eletroforética para a identificação dos clones de 14 matrizes de acerola a partir dos perfis das isoenzimas peroxidase e esterase. Os resultados demonstraram que os 14 clones das matrizes de acerola apresentaram atividades referentes a ambos os sistemas isoenzimáticos, e que essas atividades permitiram diferenciar esses clones e identificá-los entre si, e, com isso, constatar a eficiência destes sistemas no auxílio aos trabalhos de melhoramento vegetal.

CHARACTERIZATION OF CLONES OF WEST INDIAN CHERRY (*MALPIGHIA GLABRA L.*) BY MEANS OF ISOENZYMIC PEROXIDASE-ESTERASE SYSTEMS

ABSTRACT - Studies on genetic improvement of fruit trees has been utilizing genetics-biochemistry in the characterization of materials propagated vegetatively. Isoenzymatic analysis provides an adequate evaluation in recognizing accesses with the same genotype and, as far as possible, genetic variations which occur in the collection and also makes it possible to verify if the collection is genetically well represented. This study has as its objective to demonstrate the utilization of electrophoretic analysis for identifying clones of 14 breeding stocks of West Indian Cherry from the peroxidase and esterase isoenzymes. The results showed that the 14 clones of the breeding stocks of West Indian Cherry show activities typical of both isoenzymatic systems, and that these permit differentiating these clones and distinguishing between them and, with this, establishing the efficiency of these systems in aiding projects of vegetal genetic improvement.

¹ Aceito para publicação em 9 de agosto de 1995.

² Bióloga, Mestranda em Botânica na UFRPE. Pesquisadora no Lab. de Eletroforese/Biol. do Solo, Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária - IPA, Av. Gal. San Martin 1371, Bongi, Caixa Postal 1022, CEP 50761-000 Recife, PE.

³ Eng. Agr., Ph.D., EMBRAPA/IPA, Lab. de Biol. do Solo. Bolsista do CNPq.

⁴ Eng. Agr., M.Sc., Programa de Fruticultura, IPA. Bolsista do CNPq.

⁵ No Curso de Agron. UFRPE. Bolsista do CNPq.

As determinações das características constantes e universais que identifiquem os indivíduos são de fundamental importância para um programa de melhoramento vegetal (Tacacenco & Botrel, 1990). E no que diz respeito às plantas de clima tropical, as características taxonômicas e agronômicas de um mesmo material podem diferir devido às influências dos diversos mesoclimas. Por outro lado, as distinções genética-bioquímicas são mais constantes e estáveis representando uma expressão mais próxima dos genes (Marcon, 1988). Isto permite uma avaliação adequada no reconhecimento de acessos com o mesmo genótipo e, na medida do possível, as variações genéticas que ocorrem com o decorrer do tempo, bem como verifica se a coleção de germoplasma está geneticamente bem representada (Hyder, 1988). A descrição genética do material é um pré-requisito para a manutenção apropriada e utilização efetiva de uma coleção (Ramos & Queiroz, 1992).

A produção de frutas no nordeste do Brasil vem recebendo merecida atenção dos programas de melhoramentos. Entre as fruteiras, a aceroleira merece destaque, em função da grande demanda, pois seus frutos apresentam alto teor de ácido ascórbico e aceitação nos mercados nacional e internacional. A técnica de genética-bioquímica está se tornando rotineira na caracterização de materiais propagados vegetativamente para fins de melhoramento genético (Bringhurst et al., 1981; Weeden & Lamb, 1985; Dewald et al., 1988; Cousineau & Donnelly, 1989). A acerola é uma das culturas em que os pesquisadores estão aplicando, com sucesso, a mencionada técnica.

O presente trabalho teve por objetivo estabelecer o perfil das isoenzimas esterase e peroxidase em 14 clones de acerola da coleção da Empresa IPA, visando desenvolver um método seguro e rápido para caracterizar o material em via de expansão nas áreas cultivadas de Pernambuco.

As amostras foram coletadas a partir do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Empresa IPA, instalado na região do Vale do Rio Moxotó/Ibirimiri-PE. As folhas primárias dos ramos apicais dos diversos clones de acerola foram maceradas em 0,02 ml dos tampões lítio-borato (0,2 M) e tris-citrato (0,2 M), na proporção de 1:9, respectivamente com pH 8,3 e aplicadas em gel de poliacrilamida preparado a 6% com tampão Scandalios (1969) para esterase, e a 7% com tampão Poulik (1957) para peroxidase. A migração foi desenvolvida em cuba horizontal com sistema descontínuo, a uma temperatura de 4°C, durante aproximadamente, quatro horas, em voltagem de 10 V/cm. Quanto ao processo de coloração da esterase, foi utilizado o corante "fast blue basic salt" e alfa e beta anafilil acetato como substrato, sendo que na coloração da peroxidase foi utilizado 3-amino 9- etil - carbazole como corante, e dimetilformamida como substrato.

Os resultados da análise da isoenzima esterase apresentados na Fig. 1 indicam a existência de diferenças genéticas entre os clones. Os padrões de bandas que apresentaram maiores semelhanças foram os das matrizes IPA-8 e IPA-13, e diferenciaram-se somente pelas bandas que apresentaram migrações de 6,0 cm e 5,8 m, respectivamente. Por outro lado, as matrizes IPA-11 e IPA-12 foram diferenciadas pela presença da banda com migração de 3,3 cm na matriz IPA-11 de alfa esterase. Observaram-se, no entanto, diferenças nos graus de atividades enzimáticas nas bandas comuns a estas matrizes. O clone IPA-2 apresentou menor número de bandas (duas bandas

com migrações de 4,1 cm e 5,8 cm), seguido dos clones IPA-5, IPA-7, IPA-8, IPA-9 e IPA-13, cada um com três bandas. Os clones IPA-11 e IPA-12, com oito e sete bandas, respectivamente, apresentaram o maior número. Isto indica que o sistema esterase foi eficiente na identificação das matrizes estudadas.

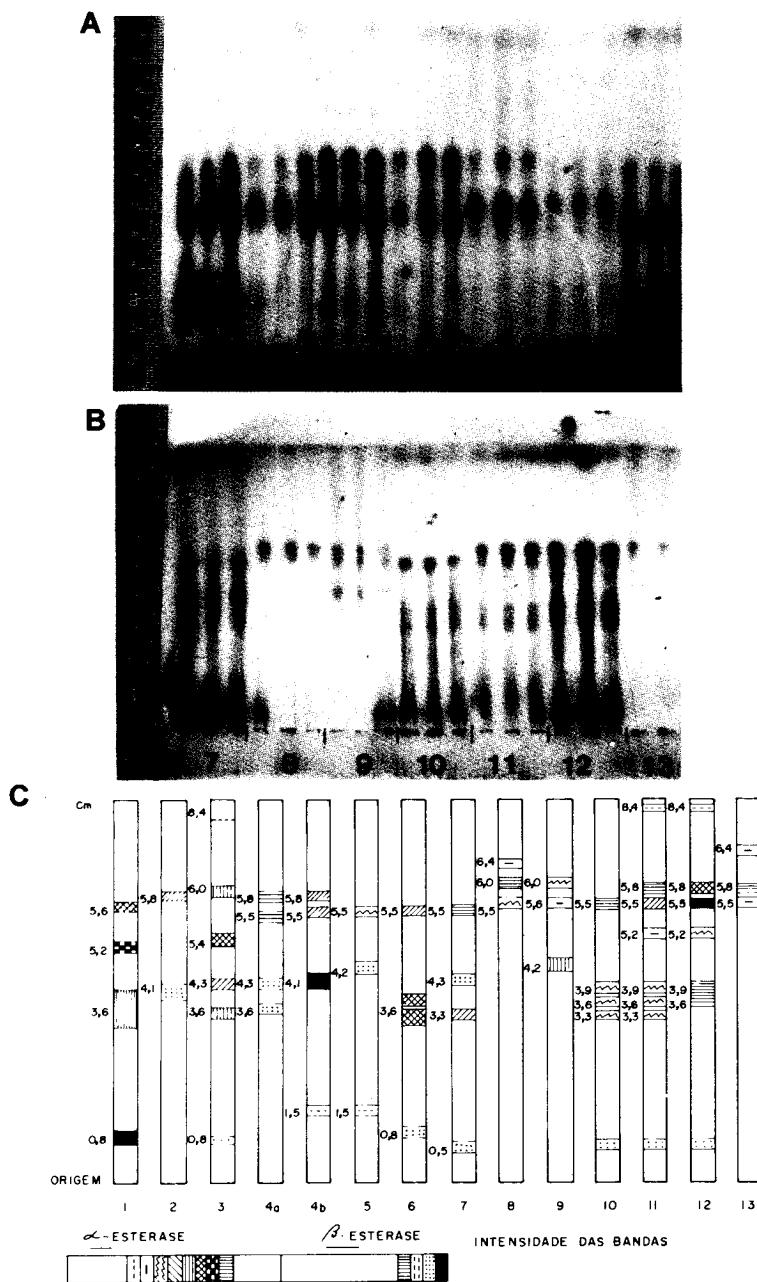


FIG. 1. Zimograma da isoenzima esterase em tecido foliar de 14 matrizes de acerola (*Malpighia glabra* L.) do BAG/IPA.

A Fig. 2 mostra o sistema isoenzimático da peroxidase. Este sistema apresentou bandas com migrações anódicas nas quatorze matrizes e catódicas em apenas quatro matrizes (IPA-2, IPA-4a, IPA-7 e IPA-8), o que evidencia variações na coleção em treze fenótipos diferentes. Os clones IPA-11 e

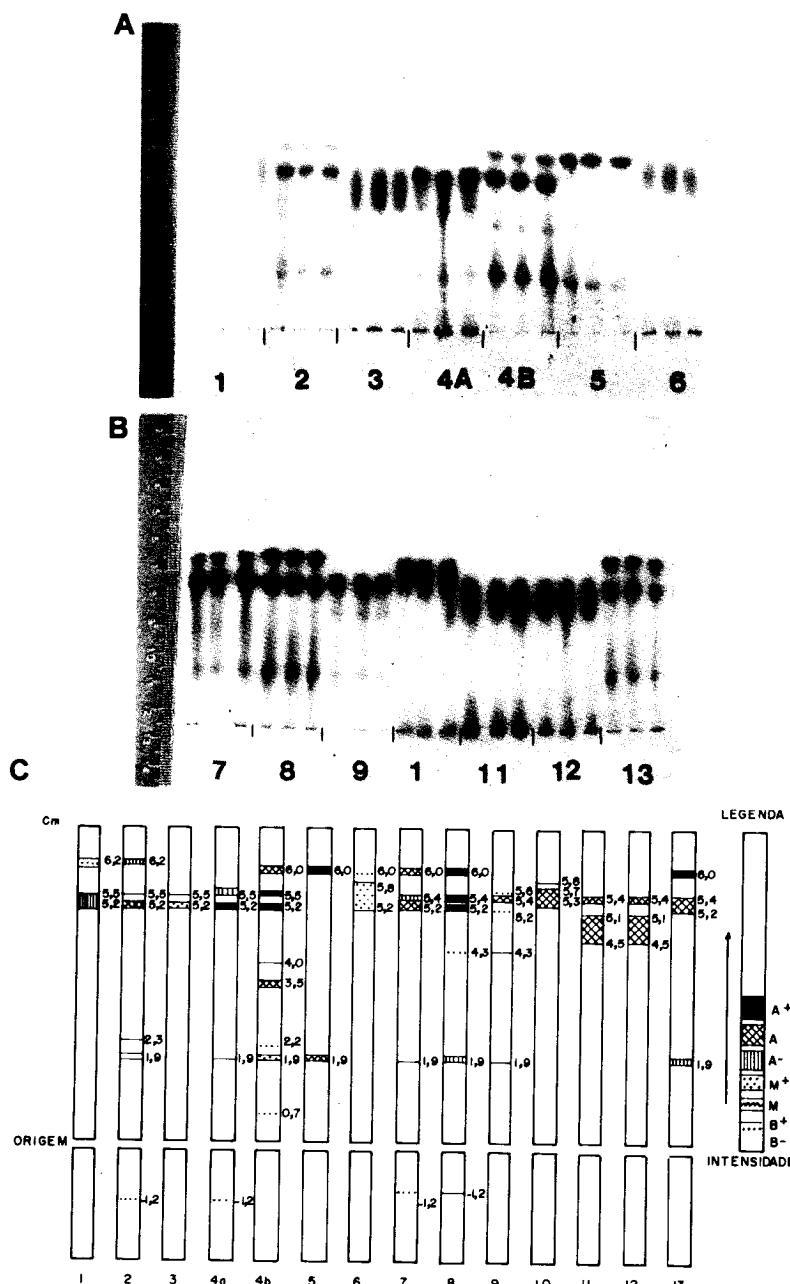


FIG. 2. Zimograma da isoenzima peroxidase em tecido foliar de 14 matrizes de acerola (*Malpighia glabra* L.) do BAG/IPA.

IPA-12, no entanto, apresentaram os mesmos padrões de migração de bandas, enquanto as demais matrizes foram diferenciadas pelas diversificações e disposições de suas bandas, destacando-se as matrizes IPA-2, com migrações de -1,2 cm; 1,9 cm; 2,3 cm; 5,2 cm; 5,5 cm e 6,2 cm, IPA-5 com migrações de 1,9 cm e 6,0 cm, IPA-11 e IPA-12 com migrações de 4,5 cm; 5,1 cm e 5,4 cm. A importância da utilização do sistema isoenzimático da peroxidase na caracterização eficiente de diversos organismos pode ser constatada nos trabalhos de Poulik (1957), Marcon (1988) e Cousineau & Donnelly (1989).

A individualização genético-bioquímica observada no presente estudo pode ser eficiente para auxiliar os trabalhos de melhoramento genético de acerola. As matrizes IPA-11 e IPA-12, no entanto, apresentaram a mesma disposição de bandas e atividade isoenzimática no sistema peroxidase. Desse modo, estas matrizes poderão apresentar distintos padrões de migração quando forem analisadas em outros estádios de crescimento.

REFERÊNCIAS

- BRINGHURST, R.S.; ARULSEKAR, S.; HANCOCK, J.F.; VOTH, V. Electrophoretic characterization of strawberry cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v.106, p.684-687, 1981.
- COUSINEAU, J.C.; DONNELLY, D.J. Identification of raspberry cultivars "in vivo" and "in vitro" using isozyme analysis. *HortScience*, v.24, p.490-492, 1989.
- DEWALD, M.G.; MOORE, G.A.; SHERMAN, W.B. Identification of pineapple cultivars by isozyme genotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v.113, p.935-938, 1988.
- HYDER, E.J. Efficient sampling from a collection. *HortScience*, v.23, p.82-84, 1988.
- MARCON, G. *Estrutura genética de populações de Stylosanthes humilis H.B.K. (Leguminosae) de três regiões de Pernambuco*. Piracicaba: ESALQ, 1988. 179p. Tese de Doutorado.
- POULIK, M.D. Starch gel electrophoresis in a discontinuous system buffer. *Nature*, v.180, p.1477-1479, 1957.
- RAMOS, S.R.R.; QUEIROZ, M.A. Caracterização morfológica de germoplasma de *Cucurbita* spp. Fase I: Caracteres vegetativos e de inflorescência. In: ENCONTRO DE GENÉTICA DO NORDESTE, 8., 1992, São Luís. *Anais...* São Luís: [s.n.], 1992, p.66.
- SCANDALIOS, J.G. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plants: a review. *Biochemical Genetics*, v.3, p.37-39, 1969.
- TACACENCO, F.A.; BOTREL, M. de A. Identificação e avaliação de acessos e cultivares de capim-elefante. In: SIMPÓSIO SOBRE CAPIM ELEFANTE, 1., 1990, Coronel Pacheco. *Anais...* Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1990. p.1-22.
- WEEDEN, N.F.; LAMB, R.C. Identifications of apple cultivars by isozymes phenotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v.110, p.509-515, 1985.