

PADRONIZAÇÃO DA ISOENZIMA 6-FOSFOGLUCONATO DESIDROGENASE EM PUPUNHA (*Bactris gasipaes* H.B.K.)

André Dall'Oca TOZETTI

Docente da Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal de Garça – SP.

Eucleia Primo Betioli CONTEL

Docente da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP – SP.

RESUMO

Objetivo do presente trabalho foi estabelecer métodos de análise eletroforética para tecidos vegetais de pupunha (*Bactris gasipaes* H.B.K.) que permitam a interpretação do padrão da isoenzima 6PGD em géis de amido e comparar os padrões eletroforéticos de aloenzimas de tecidos vegetais de plantas de pupunha. Utilizou-se de uma população natural de pupunha da região de Yurimáguas (Peru) que apresenta ausência de espinho e está sendo utilizada pelos agricultores brasileiros para produção de palmito. Através da 6PGD (2 alelos) constatou-se que a população de pupunha se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg. A 6PGD foi padronizada e interpretada geneticamente, sendo descrita pela primeira vez para espécie *Bactris gasipaes* H.B.K.

Palavras-chaves: pupunha, *Bactris gasipaes* H.B.K., 6PGD, isoenzima.

SUMMARY

The objectives of this work were to establish methods for isozyme analysis in starch gel electrophoresis for vegetable tissue of the pejibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.), to compare electrophoretic patterns of the isozymes, using of a pejibaye native population from Yurimagua (Peru). The Yurimagua's population utilized for production by the Brazilian farmers. The pejibaye population is in Hardy-Weinberg equilibrium through analysis for 6PGD (2 alleles). The 6PGD was used for genetic analysis and was studied for first time in *Bactris gasipaes* H.B.K. species.

Keywords: pejibaye, *Bactris gasipaes* H.B.K., 6PGD, isozyme.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil são diversas as palmeiras que proporcionam palmitos comestíveis e as mais comercializadas, atualmente, correspondem às do gênero *Euterpe*: a juçara (*Euterpe edulis* Mart.) e o Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). Estas palmeiras apresentam ótima qualidade de palmito e são exploradas através do extrativismo de populações naturais, já que o ciclo vegetativo é bastante longo, de cerca de sete a oito anos, desestimulando os plantios comerciais.

A pupunha (*Bactris gasipaes* H.B.K.) é uma palmeira de grande interesse econômico, pois produz palmito de alta qualidade, sendo uma espécie já domesticada, podendo ser cultivada como uma cultura agrícola racional e rentável, por ser planta que se reproduz vegetativamente, da qual o palmito pode ser extraído anualmente.

O objetivo do presente trabalho foi estabelecer métodos de análise eletroforética para tecidos vegetais de pupunha (*Bactris gasipaes* H.B.K.) que permitam a interpretação do padrão da isoenzima 6PGD em géis de amido e comparar os padrões eletroforéticos de aloenzimas de tecidos vegetais de plantas de pupunha.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As sementes, que deram origem às progênies, foram obtidas de plantas de cruzamento aberto, colhidas de plantas individuais, sem seleção, nativas da região de Yurimáguas, Peru (5°45' S e 76°05' W, 182 metros de altitude). Esta população de pupunha está sendo utilizada pelos agricultores da região de Ribeirão Preto e demais regiões do Estado de São Paulo, assim como em outros estados brasileiros, para a produção de palmito, por apresentar uma alta frequência de plantas sem espinho.

As mudas de pupunha utilizadas para análise foram acondicionadas em sacos plásticos, sob condições naturais de mata, apresentando-se bem uniformes, sendo suas folhas coletadas no momento da maceração.

As macerações dos tecidos para extração de proteínas foram realizadas utilizando-se almofariz e pilão de porcelana com areia lavada. Os tecidos eram macerados com 0,3 ml de tampão de extração: KH_2PO_4 0,1 M, EDTA 0,001 M, 0,1 % de 2-mercapto-etanol e 2% PVP, acertado para pH 7,2. As amostras, de 144 indivíduos da população de pupunha, foram maceradas até que se tornassem pastosas, o mais rápido possível, sendo transferidas para uma placa escavada previamente resfriada. Sendo as amostras aplicadas no gel de amido utilizando-se de pedaços de papel de filtro (0,5 x 1,5 cm).

As amostras foram aplicadas no gel de amido de batata (Sigma – S4501), na concentração de 12%. Foram utilizadas formas de acrílico, sob placas de vidro, que resultaram em géis de 18 x 8 x 0,8 cm, aos quais foram aplicadas de 8 a 12 amostras. Utilizou-se como tampão do gel de: tris 0,0743M, ácido cítrico 0,005M com pH 8,7. Como tampão dos eletrodos: ácido bórico 0,3M, NaOH 0,06M com pH 7,8. A condição inicial da corrida foi de 21 mA e 20V e final de 21 mA e 180 V (medidas diretamente nos géis), com duração de 3 horas e 30 minutos.

Foram utilizados para revelação da 6PGD de 10 ml de tampão de Tris-HCL 0,1M com pH 8,0, 10 mg de fosfogluconato de sódio, 2 ml de MgCl_2 , 5 mg de NADP, 15 ml de Agar 2%, 10 mg de MTT e 1 mg de PMS.

Utilizou-se o teste de qui-quadrado e do teste exato pela cadeia de Markov, para verificar se o número observado de indivíduos por classe genotípica, no loco, distribuía-se de acordo com o número esperado pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg, hipótese de nulidade (H_0).

O cálculo do qui-quadrado foi feito através do programa FREGEN (CABELLO e KRIEGER, 1991). O teste exato foi realizado através do programa GENEPOP (RAYMOND e ROUSSET, 1995), que se utiliza do método da cadeia de Markov para estimar o valor exato da probabilidade (GUO e THOMPSON, 1992).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a 6PGD foi estudado um loco, cujo produto é de uma enzima tipicamente dimérica (Figura 1). Em uma região mais anódica dos géis (porção Z) foi também observada a presença de outro polimorfismo não interpretado geneticamente.

Foram encontrados, na população, indivíduos homozigotos para o alelo denominado a, observados nas amostras 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9 e 10. O alelo b só pôde ser identificado em indivíduos heterozigotos. Indivíduos heterozigotos com o genótipo ab estão representados nas amostras 1 e 6 (Figura 1).

A enzima 6PGD tem sido examinada para várias espécies de plantas, sendo encontrada para a maioria das espécies como uma enzima dimérica codificada por dois locos, estando os produtos de um dos locos presente no citoplasma e o outro associado com plastídios. MORETZSOHN (1995), estudando 6PGD, através de amostras de pólen de *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera* e seus híbridos, encontrou padrões bastante semelhantes aos descritos para *Elaeis guineensis*, tendo observado a presença de dois locos, um monomórfico e outro polimórfico, com dois alelos.

Obteve-se para o loco analisado a aderência ao equilíbrio de panmixia, tanto para o nível crítico de 1% como de 5% de probabilidade para a distribuição do qui-quadrado, como para o teste exato, pela cadeia de Markov, apresentando probabilidade superior a 1%, demonstrando que a população está em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Para analisar se a população está em equilíbrio de Hardy-Weinberg utilizou-se também o teste exato, pois o mesmo é desejável quando se tem pequeno tamanho amostral ou quando a amostra, apesar da magnitude, apresenta muitos genótipos, sendo que para alguns genótipos a frequência é zero (GUO e THOMPSON, 1992).

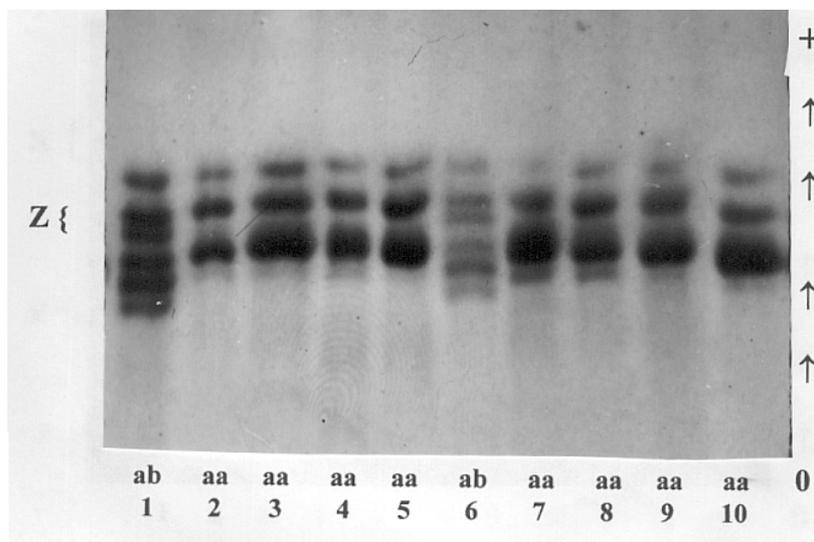


FIGURA 1 – Fenótipos observados para 6PGD, em amostras de pupunha (*Bactris gasipaes* H.B.K.).

4. CONCLUSÕES

As aloenzimas 6PGD apresentaram bandas bem nítidas, sendo um loco polimórfico bem caracterizado pelo presente trabalho podendo ser utilizado como marcador genético, em plantas de *Bactris gasipaes* H.B.K.

Foi observado através do marcador 6PGD que a população de pupunha, sob condições naturais, encontra-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CABELLO, P.K; KRIEGER, H. *GENIOC – Sistema para análises de dados de genética*. 1. ed. Rio de Janeiro: Fundação Osvaldo Cruz, 1991. 139 p.

GUO, S.W; THOMPSON, E.A. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics*, v. 48, p. 361-372, 1992.

MORETZSOHN, M.C. *Estudo de padrões eletroforéticos e análise da variabilidade genética de dendê (Elaeis guineensis), caiaué (E. oleifera), e gerações F₁ e RC₁*. 1995. 109f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto.

RAYMOND, M; ROUSSET, F. GENEPOP (version 1.2): A population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of heredity*, v. 86, p. 248-249, 1995.