

PADRÕES DE ISOESTERASES NA CARACTERIZAÇÃO DE ACESSOS DE PIMENTA DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DE CAPSICUM DA UFPI

Camila Silva Alexandre Veronez (bolsista do ICV); Kássia Andreia Meirelles Sales (bolsista do ICV); Gleice Ribeiro Orasmo (Orientadora, Departamento de Biologia – UFPI)

INTRODUÇÃO

As pimentas do gênero *Capsicum* são de grande importância socioeconômica e cultural em diversas partes no mundo, sendo muito utilizadas no consumo *in natura*, como constituinte de molhos e condimentos e secas, como pós, em temperos (TEIXEIRA, 1996).

Parte do germoplasma de *Capsicum* tem sido conservada em bancos de germoplasma pertencentes a diversas instituições no Brasil, no entanto, pouco se conhece sobre a variabilidade genética das espécies encontradas no país (LOURENÇO et al., 1999; BIANCHETTI, 1996).

Devido à importância em se conhecer a variabilidade genética o presente estudo teve como objetivo caracterizar a diversidade genética em subamostras de pimentas do Banco Ativo de Germoplasma de *Capsicum* da Universidade Federal do Piauí, utilizando padrões de isoesterases.

METODOLOGIA

Seis subamostras de pimentas do BAGC da UFPI foram utilizadas para a análise da diversidade genética: BAGC 43, BAGC 37, BAGC 22, BAGC 01, BAGC 36 e BAGC 49. Folhas jovens das plântulas foram homogeneizadas individualmente em microtúbulos com 20µL de solução de extração, preparada com tampão fosfato 1,5 M, pH 7,0 contendo: PVP-40 5%, 10µL de EDTA 1,0 mM, 5µL de β-mercaptoetanol e 10-30µL de glicerina. As amostras foram centrifugadas a 15.000 rpm durante 30 min. a 4°C e os sobrenadantes foram aplicados no gel de poliacrilamida a 12%.

O gel de separação foi preparado com um volume de 6,2 mL de solução de Acrilamida 30% / Bis-acrilamida 0,8%; 4,0 mL de Tris-HCl 1,5 M pH 8,8; 5,7 mL de água bidestilada; 320 µL de Persulfato de amônio 2% e 16 µL de Tetramethylethylenediamine (TEMED). O gel de empilhamento foi preparado com 3,0 mL da solução Acrilamida/Bis-acrilamida; 4,0 mL de Tris-HCl 0,24 M pH 6,8; 45 µL de água bidestilada; 375 µL de Persulfato de amônio 2% e 4,5 µL de TEMED. A eletroforese teve duração de cerca de 6-7 h em 200 V e com o tampão 0,125 M Tris/0,0959 M Glicina, pH 8,3.

A eletroforese durou 6-7h a 200 V, com tampão Tris-glicina 0,1 mM em pH 8,3. Para coloração o gel foi incubado em 50 mL do tampão Fosfato de Sódio 0,1 M pH 6,2, com 30 mg de α-naftil acetato, 30 mg de β-naftil acetato e 50 mg de Fast blue RR salt, por cerca de 60 min. A variabilidade genética nas subamostras de *Capsicum* spp. foi analisada com o programa POPGENE 1.32.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dezesseis plântulas foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida, sendo 03 de BAGC 01, 02 de BAGC 22, 04 de BAGC36, 05 de BAGC 37, 01 de BAGC 43 e 01 de BAGC 49. A corrida eletroforética durou 6-7 horas, permitindo a visualização de oito *loci* de esterases, todas monoméricas (Figura 01). Para os *loci* Est-1 e Est-3 foram detectadas uma única banda e para os *loci* Est-2, Est-4, Est-5, Est-6, Est-7 e Est-8 foram revelados dois alelos, resultando num total de 14 alelos:

Os *loci* Est-3 e Est-6 foram considerados como sendo α -esterases, os *loci* Est-2 e Est-5 como sendo β -esterases e para os *loci* Est-1, Est-4, Est-7 e Est-8 como sendo α/β -esterases.

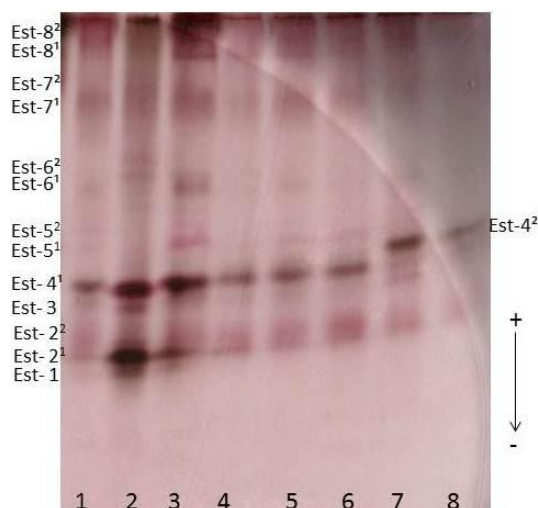


Figura 01: Isoenzimas esterases em gel de poliacrilamida de subamostras de pimenta: BAGC 49 (1), BAGC 43 (2), BAGC 37 (3, 4 e 5), BAGC 01 (6) BAGC 36 (7 e 8) pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de *Capsicum* da UFPI.

Foi possível detectar polimorfismo nos oito *loci* das seis subamostras analisadas. Estas subamostras abrangem as principais espécies do Gênero *Capsicum*: *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. annuum* e *C. baccatum*, nas quais os *loci* avaliados apresentaram uma média de 1,75 alelos por *loci* polimórfico. Este valor é baixo, o que indica uma base genética estreita para a espécie. Além disso, para o melhoramento genético de plantas é mais interessante uma base genética ampla, para, através de cruzamentos, obter novos genes. Embora esta média seja baixa, os resultados apontam um alto polimorfismo, o qual foi de 75% para todos os *loci* analisados. A heterozigosidade média esperada (H_e) e observada (H_o) para os *loci* analisados nas seis subamostras foi de 36% (0,3649) e 32% (0,3228), respectivamente, indicando uma alta diversidade.

O valor médio do coeficiente de endogamia (F_{is}) apresentou valor negativo de 52% (-0,5231), isso indica um excesso de heterozigotos para os *loci* analisados. O valor de F_{it} foi de 28% (0,2854), indicando que o excesso de heterozigotos existente é moderado, uma vez que há poucos alelos para cada *loci*. Entretanto, a frequência de alelos nas plântulas das diferentes subamostras determinou uma divergência genética (F_{st}) altíssima, a qual foi de 53% (0,5308). Os resultados indicam que as subamostras do BAGC da UFPI são muito diferentes entre si.

A análise de similaridade entre as plântulas das seis subamostras de *Capsicum* spp. apresentou valores variando de 0,4047 a 1,0152. A maior similaridade encontrada foi de 101% e ocorreu entre as subamostras BAGC 37 e BAGC 01, pertencentes a mesma espécie. Já o menor índice de similaridade foi de 40% e ocorreu entre as subamostras BAGC 43 e BAGC 36, isto mostra que a menor similaridade entre estas subamostras é moderada, ou seja, há significativa divergência entre as subamostras do banco.

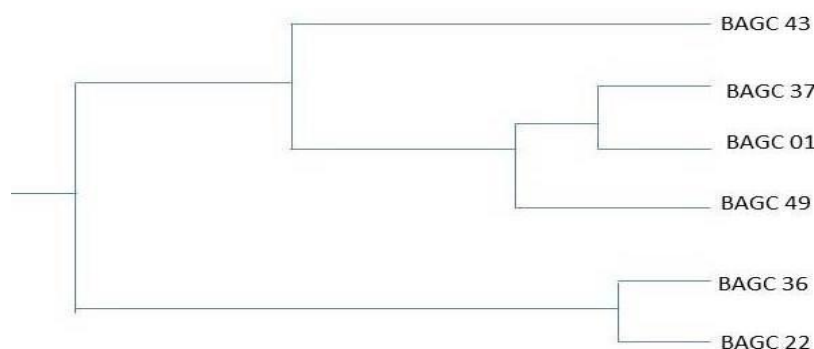


Figura 03. Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA para as seis subamostras de pimenta do BAGC da UFPI.

O dendrograma mostrou concordância na divisão dos grupos em relação às suas espécies e/ou aos complexos taxonômicos pertencentes. As subamostras BAGC 37 e BAGC 01, as quais pertencem à espécie *C. frutescens*, foram agrupadas num mesmo grupo. E, apesar da subamostra BAGC 49, a qual pertence à espécie *C. chinense*, ter sido agrupada próxima às estas subamostras e não junto à subamostra BAGC 22, também da espécie *C. chinense*, está em concordância com a divisão dos complexos taxonômicos, pois segundo Pickersgill (1988) as espécies *Capsicum annum*, *C. frutescens* e *C. chinense* são agrupadas em um mesmo complexo taxonômico.

CONCLUSÃO

Foi possível caracterizar, através das isoenzimas esterases, a diversidade genética em seis subamostras de pimentas do Banco Ativo de Germoplasma de *Capsicum* da UFPI.

As isoesterases representam marcadores eficientes e podem ser utilizadas para detectar a diversidade genética em pimentas do Gênero *Capsicum* a fim de auxiliar programas de melhoramento e pré-melhoramento na espécie.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LOURENÇO, R. T.; BIANCHETTI, L. D.; LINS, T. C.de L.; SILVA, N.J. M.L.; BUSO, G.C. S.; POZZOBON, M.; FERREIRA, M. E. New putative *Capsicum* species collected in the Brazilian Atlantic Forest and their genetic relationship with cultivated peppers: a first genetic view using molecular markers. In: Congresso Nacional de genética, **Resumos**. Gramado: SBG, p.282, 1999.

PICKERSGILL, B. 1988. The genus *Capsicum*: A multidisciplinary approach to the taxonomy of cultivated and wild plants. **Biologisches Zentralblatt** 107: 381-389.

TEIXEIRA, R. Diversidade em *Capsicum*: análise molecular, morfoagronômica e química. 1996. 84p. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Viçosa.

Palavras-chave: *Capsicum*. Diversidade Genética. Isoenzimas.