

VARIABILIDADE MORFO-AGRONÔMICA E ISOZIMÁTICA ENTRE ACESSOS DE MORANGA (*Cucurbita maxima* Duch.)¹

Antônio Teixeira do Amaral Júnior²
Vicente Wagner Dias Casali³
Fernando Luiz Finger⁴
Cosme Damião Cruz
Luiz Fernando Corbeira da Silva²

1. INTRODUÇÃO

O sucesso de um programa de melhoramento depende, em parte, da variabilidade genética dos progenitores. Portanto, a sua avaliação é extremamente importante em programas envolvendo hibridações, por fornecer parâmetros para a identificação de progenitores que, quando cruzados, possibilitam maior efeito heterótico na progênie e maior probabilidade de obter genótipos superiores nas gerações segregantes (5, 13).

Não obstante, métodos bioquímicos e de biologia molecular podem auxiliar na identificação de genótipos superiores, quando se dispõem de marcadores eficientes com potente propriedade seletiva (1, 2, 6, 17). Entre os métodos bioquímicos, a eletroforese de proteínas tem sido bastante utilizada, por quantificar e caracterizar a variabilidade genética, permitindo estimar o grau de divergência genética entre populações ou indivíduos (1, 2, 3, 12, 14, 17). Com o objetivo de avaliar a variabilidade genética entre acessos de moranga, estimou-se o grau de variabilidade da fosfatase ácida, do

¹ Aceito para publicação em 08.12.1995.

² Bolsistas do CNPq.

³ Departamento de Fitotecnia. Universidade Federal de Viçosa 36571-000 - Viçosa, MG.

⁴ Dep. de Biologia Geral. Universidade Federal de Viçosa 36571-000 - Viçosa, MG.

glutamato oxaloacetato transaminase, do malato desidrogenase, da peroxidase e também de alguns caracteres morfo-agronômicos, bem como de suas possíveis relações.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Avaliaram-se sete caracteres morfo-agronômicos e quatro sistemas isozimáticos - fosfatase ácida (ACP), glutamato oxaloacetato transaminase (GOT), malato desidrogenase (MDH) e peroxidase (PO) - de oito acessos de moranga, do Banco de Germoplasma de Hortaliças (BGH) da Universidade Federal de Viçosa (Quadro 1).

QUADRO 1 - Acessos de moranga com as respectivas procedências

Acessos	Procedências
BGH 1908	Aimorés (MG)
BGH 4520	EMBRAPA - Brasília (DF)
BGH 5458	ESALQ - Piracicaba (SP)
BGH 5615	EMBRAPA - Brasília (DF)
BGH 5618	Ceará (CE)
BGH 5628	Ceará (CE)
BGH 5642	EMBRAPA - Brasília (DF)
BGH 6158	EMPASC (SC)

Os seguintes caracteres morfo-agronômicos foram avaliados: (a) ANTESE: número de dias da sementeira à antese da primeira flor feminina; (b) RAMA F: comprimento da rama principal até a primeira flor feminina; (c) RAMA T: comprimento da rama principal até o ápice; (d) NÓS F: número de nós da rama principal até a primeira flor feminina; (e) NÓS T: número de nós da rama principal até o ápice; (f) COMP. F: comprimento médio do internódio da rama principal até a primeira flor feminina; e (g) COMP. T: comprimento médio do internódio até o ápice.

Para a avaliação dos caracteres, procedeu-se à condução de um experimento de campo, na Horta do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, no período de fevereiro a abril de 1992.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com oito acessos e quatro repetições, sendo as parcelas constituídas por

três covas com duas plantas cada, perfazendo o total de 192 plantas.

A eletroforese foi feita em gel de amido de milho a 12%, de acordo com o proposto por CONKLE *et alii* (4). Empregou-se o sistema-tampão gel/eletrodo preconizado por SHAW e PRASAD (15) para MDH e SOLTIS *et alii* (16) para os demais sistemas.

Na análise estatística dos caracteres morfo-agronômicos empregaram-se os recursos computacionais do Programa GENES, desenvolvido pelo Prof. Cosme Damião Cruz, do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa, enquanto a variabilidade isozimática foi quantificada pelo índice de NEI (11), com base nas descrições dos alelos preconizadas por NEALE *et alii* (10).

Para o preparo da solução de coloração para ACP, dissolveram-se 45,0 mg de "fast garnet GBC salt" em 50,0 ml de tampão acetato (0,008 M acetato de sódio e 0,06 M ácido acético) pH 5,0 e adicionaram-se 90,0 mg de α -naftil fosfato ácido de sódio; 20,0 mg de cloreto de magnésio; 125,0 mg de PVP-40 a 10%; e 500,0 mg de cloreto de sódio. Para a identificação da atividade da GOT, empregou-se o procedimento proposto por SOLTIS *et alii* (16). A coloração para malato desidrogenase (MDH) foi obtida pela adição de 15,0 mg de NAD^+ ; 1,0 mg de PMS; 15,0 mg de MTT; 1,8 ml de Na L-Malato 0,1 M (pH 7,0); 1,3 ml de NaCN; 7,5 ml de tampão Tris-citrato 0,5M (pH 7,1); e 35,0 ml de água destilada. O procedimento de coloração para PO foi o proposto por SHAW e PRASAD (15).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na quase totalidade dos caracteres morfo-agronômicos avaliados, as variâncias fenotípicas e genotípicas entre os acessos foram superiores às respectivas variâncias dentro. Apenas o acesso BGH 4520 com relação à ANTESE e aos acessos BGH 5458 e BGH 5615 para com NÓS T apresentou variância dentro superior às análogas entre, indicando que a recombinação gênica envolvendo duas ou mais populações poderá contribuir significativamente para aumentar a variabilidade e, conseqüentemente, proporcionar satisfatórios ganhos por seleção (Quadro 2).

Dentre as enzimas avaliadas, a ACP, a GOT e a MDH não apresentaram polimorfismo inter e intrapopulacional, conforme Figura 1. Com relação à PO, única enzima polimórfica (Figura 2), os valores das heterozigosidades dos locos variaram de 0,18 a 0,48, como mostrado no Quadro 3.

A análise estatística dos locos gênicos dos sistemas isozimáticos (Quadro 4) mostrou a existência de variação nos padrões de bandas tanto entre quanto dentro de acessos. Contudo, a variabilidade entre não teve a mesma magnitude da variabilidade dentro. Nesse aspecto, apenas 1,53% da

QUADRO 2 - Estimativas das variâncias fenotípicas e genotípicas dentro e entre acessos de moranga para sete caracteres morfo-agronômicos

Caracteres morfo-agronômicos ¹														
Acessos	ANTESE		RAMAF		RAMAT		NÓSF		NÓST		COMP.F		COMP.T	
	$\hat{\sigma}^2_{dF}$	$\hat{\sigma}^2_{dG}$	$\hat{\sigma}^2_{dF}$	$\hat{\sigma}^2_{dG}$	$\hat{\sigma}^2_{dF}$	$\hat{\sigma}^2_{dG}$	$\hat{\sigma}^2_{dF}$	$\hat{\sigma}^2_{dG}$	$\hat{\sigma}^2_{dF}$	$\hat{\sigma}^2_{dG}$	$\hat{\sigma}^2_{dF}$	$\hat{\sigma}^2_{dG}$	$\hat{\sigma}^2_{dF}$	$\hat{\sigma}^2_{dG}$
BGH 1908	23,57	17,81	152,22	-8,37	458,05	213,68	5,57	3,51	4,01	16,20	0,67	5,18	2,44	1,75
BGH 4520	47,17	41,41	1182,93	1022,32	1198,42	1754,05	9,28	7,22	9,44	23,99	3,90	15,51	1,73	1,04
BGH 5458	27,89	22,12	415,43	254,82	770,24	525,87	5,74	3,68	8,60	27,07	2,52	16,01	0,91	0,22
BGH 5615	27,17	21,41	7,99	747,38	2100,05	1855,68	6,57	4,51	11,97	26,24	2,81	14,49	1,61	0,92
BGH 5618	17,21	11,45	479,85	319,24	1546,45	1302,08	3,72	1,66	2,25	15,90	3,99	5,83	6,47	5,78
BGH 5628	11,66	5,90	1142,62	982,02	2369,69	2125,32	4,94	2,88	7,08	17,78	5,77	11,82	4,13	3,44
BGH 5642	27,78	22,01	453,70	293,11	550,02	305,65	7,69	5,63	9,51	14,28	2,45	6,13	2,07	1,38
BGH 6158	27,92	22,16	175,85	15,24	633,56	389,19	2,35	0,30	3,47	17,90	4,23	12,38	2,11	1,42
$\hat{\sigma}^2_{rF}$	28,42		10334,33		14684,45		10,66		23,61		20,42		12,19	
ϕ_G		26,99		10294,19		14623,36		10,15		23,24		20,27		12,03

¹ ANTESE - número de dias da sementeira à antese da primeira flor feminina; RAMA F - comprimento da rama principal até a primeira flor feminina; RAMA T - comprimento da rama principal no dia da antese da primeira flor feminina; NÓSF - número de nós da rama principal até a primeira flor feminina; NÓST - número de nós da rama principal no dia da antese da primeira flor feminina; COMP F - comprimento médio do internódio da rama principal até a primeira flor feminina; COMP T - comprimento médio do internódio da rama principal no dia da antese da primeira flor feminina.

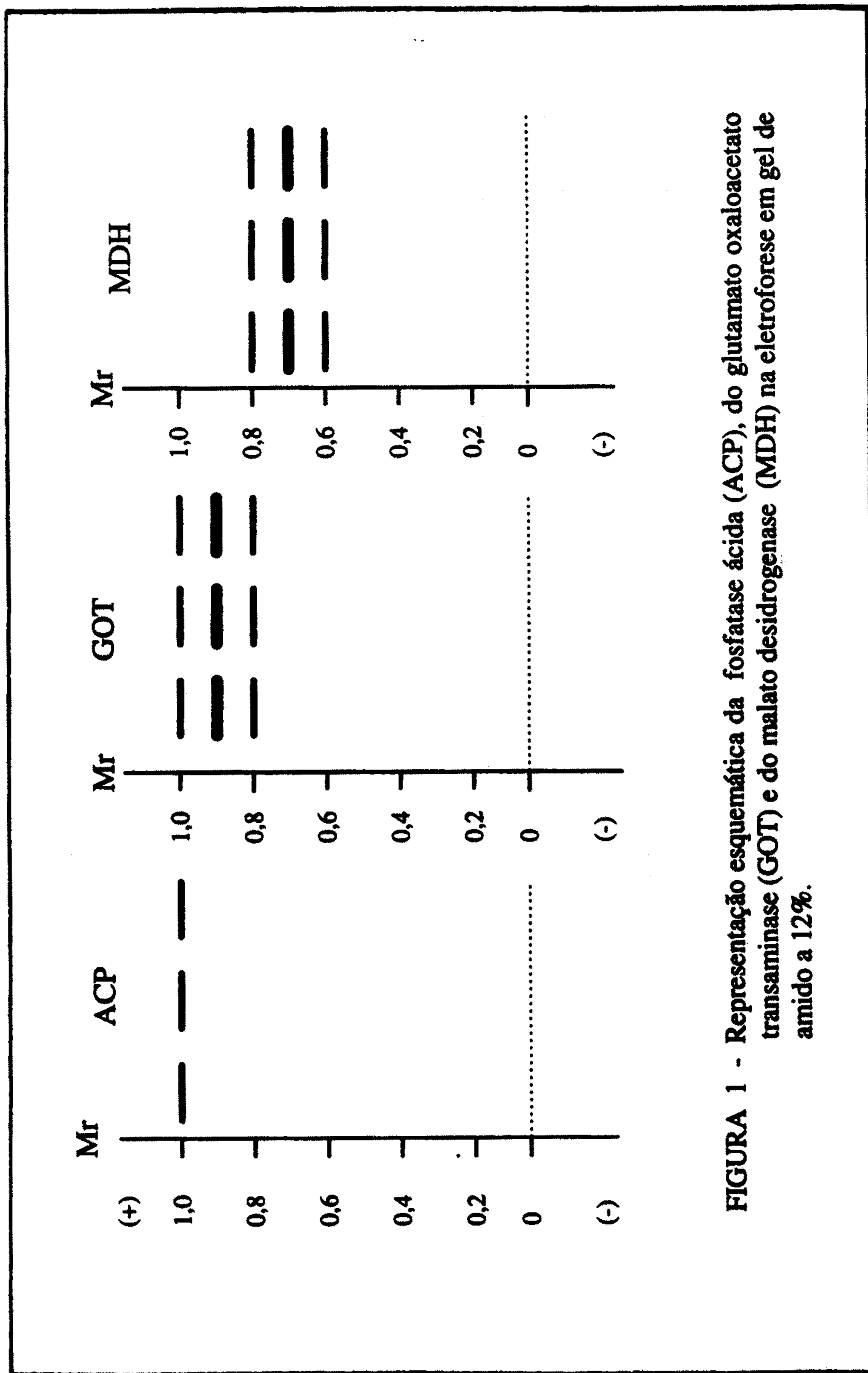


FIGURA 1 - Representação esquemática da fosfatase ácida (ACP), do glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) e do malato desidrogenase (MDH) na eletroforese em gel de amido a 12%.

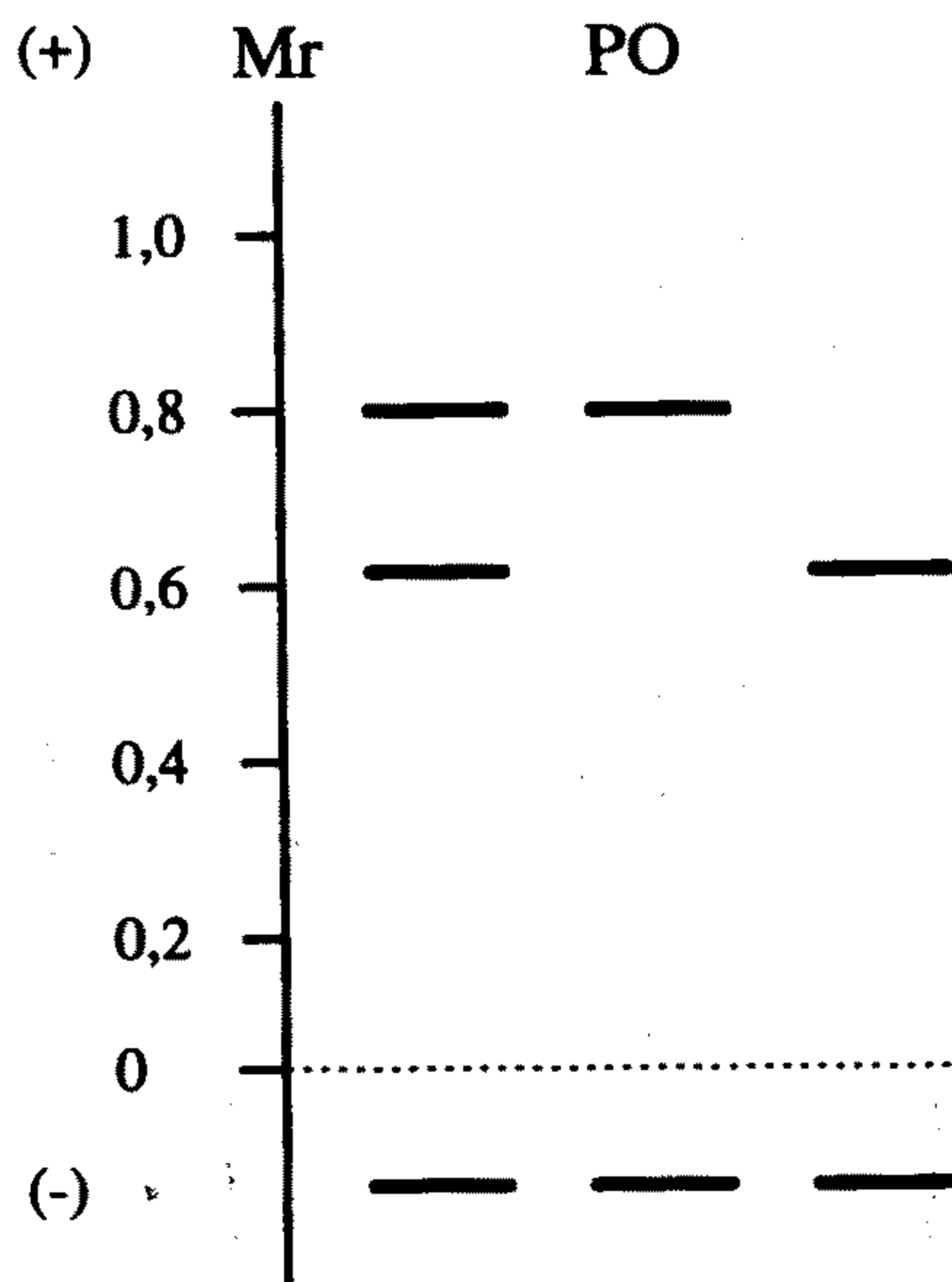


FIGURA 2 - Representação esquemática da peroxidase (PO) na eletroforese em gel de amido a 12%.

QUADRO 3 - Resumo da análise da peroxidase (PO)

Acessos	$p(a)_i^1$	$p(b)_i^2$	H_i^3
1 (BGH 1908)	84,21	15,79	0,2659
2 (BGH 4520)	89,58	10,42	0,1867
3 (BGH 5458)	87,50	12,50	0,2187
4 (BGH 5615)	68,75	31,25	0,4297
5 (BGH 5618)	80,44	19,56	0,3147
6 (BGH 5628)	58,33	41,67	0,4861
7 (BGH 5642)	78,26	21,74	0,3403
8 (BGH 6158)	85,42	14,58	0,2491

¹ Frequência percentual do alelo a.

² Frequência percentual do alelo b.

³ Heterozigose do loco gênico.

variabilidade genética total foi atribuída à diferença entre os oito acessos, enquanto o restante, 98,47%, ocorreu em virtude da variabilidade presente nos acessos. Essa situação é contrastante com a discriminação revelada pelos descritores morfo-agronômicos. Ademais, não se constatou associação entre as magnitudes dos sistemas isozimáticos com as análogas variâncias genóticas dentro das populações dos sete caracteres morfo-agronômicos.

QUADRO 4 - Resumo da análise da variabilidade genética dos sistemas enzimáticos esterase (EST), glutamato oxaloacetato transaminase (GOT), malato desidrogenase (MDH) e peroxidase (PO)

Parâmetros	Valores
H_S^1	0,3281
D_{ST}^2	0,0051
G_{ST}^3	0,0153

¹ Diversidade genética média dentro de acessos.

² Média da diversidade genética total entre acessos.

³ Proporção da diversidade genética total atribuída ao componente "entre acessos".

A ausência de associação entre caracteres isozimáticos e morfológicos tem sido constatada em espécies de *Cucurbita* (9, 17). Em estudo comparativo do comportamento qualitativo e quantitativo da peroxidase em linhagens isogênicas e em variedades normais e braquíticas de *C. maxima* e *C. pepo*, foi constatada a existência de variabilidade quantitativa entre as espécies, e as plantas braquíticas apresentaram maior atividade de peroxidase (9). Entretanto, nenhuma associação qualitativa entre hábito braquítico e normal foi constatada para as formas isozimáticas da peroxidase (9).

HAMRICK (7), avaliando a discordância entre a variação de caracteres morfométricos e os isozimáticos, afirmou que os resultados disponíveis não são elucidativos, uma vez que indicam associação positiva em alguns casos, enquanto noutros inexistente associação entre a variação dos locos enzimáticos e os caracteres morfométricos geneticamente controlados.

Nesse contexto, Millar, citado por BARROS (2), relatou que em muitas coníferas a variação para caracteres morfológicos e fisiológicos é mais pronunciada que nos caracteres isozimáticos avaliados, tendo verifi-

cado, numa variedade de *Pinus*, diferenças nos padrões de variação isozimática, sobrevivência e crescimento, morfologia do cone, anatomia do canal resinífero, composição de monoterpenos e relações entre cruzamentos e reprodução; tais discordâncias podem ocorrer mesmo em caracteres dentro de quaisquer destas categorias, o que, se causa dificuldades aos taxonomistas e conservacionistas, está, porém, inteiramente de acordo com os preceitos da evolução.

Embora não se possa generalizar, o sistema de reprodução da espécie vegetal parece estar diretamente relacionado com a ausência de associação entre a variação de caracteres morfométricos e isozimáticos. Essa hipótese baseia-se na observação de PRICE *et alii* (13), em que não se constatou associação entre a variação com base em caracteres quantitativos e os polimorfismos isozimáticos na espécie alógama (*Clarkia williansonii*), em contraste com três espécies autógammas (*Avena barbata*, *Hordeum jubatum* e *Hordeum vulgare*), nas quais houve forte associação entre os dois grupos de caracteres, concordando inclusive com HAMRICK e GODT (8), que também encontraram esta associação em *A. barbata*, levando-os a concluir que os marcadores enzimáticos podem ser importantes na identificação de características desejáveis em plantas predominantemente autógammas.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

A análise eletroforética dos sistemas enzimáticos fosfatase ácida (ACP), glutamato oxaloacetato transaminase (GOT), malato desidrogenase (MDH) e peroxidase (PO) e a avaliação de sete caracteres morfo-agronômicos foram utilizadas para a quantificação da variabilidade genética entre oito acessos de moranga (*Cucurbita máxima* Duch.). A eletroforese, conduzida em gel de amido de milho, mostrou a existência de variação nos padrões de bandas tanto entre quanto dentro das populações avaliadas. A quase totalidade dos caracteres morfo-agronômicos apresentou magnitudes de variâncias fenotípicas e genotípicas entre os acessos superiores às respectivas variâncias dentro de cada acesso. Não se constatou nenhuma associação entre a variabilidade isozimática e a obtida com os caracteres morfo-agronômicos.

5. SUMMARY

(MORPHOLOGICAL AND ISOZYMATIC VARIABILITY OF PUMPKIN (*Cucurbita maxima* Duch) ENTRIES)

Genetic variability of seven pumpkin entries of plants was estimated

by electrophoretic analysis of acid phosphatase (ACP), glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), malate dehydrogenase (MDH) and peroxidase (PO) isozymes and morphologic characteristics. Starch gels revealed different patterns of isozymes within as well as outside the population. Most of the morphological attributes varied among the different groups of plants. It was not possible to establish a relationship between the isozyme patterns and the morphologic attributes studied.

6. LITERATURA CITADA

1. ALFENAS, A. C.; PETERS, I.; BRUNE, W. & PASSADOR, G. C. *Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais*. Viçosa, UFV, Impr. Univ., 1991. 242p.
2. BARROS, L. M. *Caracterização morfológica e isoenzimática do cajueiro (Anacardium occidentale L.), tipos comum e anão precoce, por meio de técnicas multivariadas*. Piracicaba, USP/ESALQ, 1991. 256p. (Tese D.S.).
3. BREWER, G. J. & SINGH, C. F. *An introduction to isozyme techniques*. New York, Academic Press, 1970. 186p.
4. CONKLE, M. T.; HODGSKISS, P. D.; NUNNALLY, L. B. & HUNTER, S. C. *Starch gel electrophoresis of conifer seeds: a laboratory manual*. Berkeley, USDA, Forest Service, 1982. 18p. (Gen. Tech. Rep., PSW-64).
5. CRUZ, C. D. *Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas*. Piracicaba, USP/ESALQ, 1990. 188p. (Tese D.S.).
6. GOTTLIEB, L. D. Electrophoretic evidence and plant systematic. *Ann. Missouri Bot. Gdn.*, 64:161-180, 1977.
7. HAMRICK, J. L. Isozymes and the analysis of genetic structure in plant populations. In: SOLTIS, D. E. & SOLTIS, P. S. (ed.). *Isozymes in plant biology*. Portland, Discorides Press, 1989. p.87-105.
8. HAMRICK, J. L. & GODT, J. W. Allozyme diversity in plant species. In: SOLTIS, D. E. & SOLTIS, P. S. (ed.). *Isozymes in plant biology*. Portland, Discorides Press, 1989. p.43-63.
9. LOY, J. B. Cultivar and germoplasm releases. "Atum Praid" winter squash. *HortScience*, 17:332-333, 1982.
10. NEALE, D. B.; WEBER, J. C. & ADAMS, W. T. Inheritance of needle tissue isozymes in Douglas-fir. *Can. J. Genet. Cytol.*, 26:459-468, 1984.
11. NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 70:3321-3323, 1973.
12. PASTEUR, N.; PASTEUR, G.; BONHOME, F.; CATALAN, J. & BRITTON-DAVIDIAN, J. *Practical isozyme genetics*. New York, Halsted Press, 1988. 215p.
13. PRICE, S. C.; SHUMAKER, K. M.; KAHLER, A. L.; ALLARD, R. W. & HILL, J. E. Estimates of population differentiation obtained from enzyme polymorphisms and quantitative characters. *J. Hered.*, 75:141-142, 1984.
14. SCANDALIOS, J. G. Genetic control of multiple molecular forms of enzymes in plant: a review. *Biochem. Genet.*, 3:37-79, 1969.

15. SHAW, C. R. & PRASAD, R. Starch gel electrophoresis of enzymes: a compilation of recipes. *Biochem. Genet.*, 4:297-320, 1970.
16. SOLTIS, D. E.; HAUFLER, C. H.; DARROW, D. C. & GASTONY, G. J. Starch gel electrophoresis of fern: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. *Amer. Ferm. J.*, 73:9-27, 1983.
17. TANKSLEY, S. D. & ORTON, T. J. *Isozymes in plant genetics and breeding*. Amsterdam, Elsevier, 1983. 516p.