

CARACTERIZAÇÃO ISOENZIMÁTICA E MORFOLÓGICA DE CLONES E INTRODUÇÕES DE ALHO (1)

WALTER JOSÉ SIQUEIRA (2, 4), HERCULANO PENNA MEDINA FILHO (2, 4),
ROGÉRIO SALLES LISBÃO (3, 4) e JOÃO BAPTISTA FORNASIER (3, 4)

RESUMO

Em virtude do grande número de denominações locais para clones de alho, nem sempre correspondentes a materiais distintos, conduziu-se o presente estudo objetivando a caracterização e classificação de 72 clones e introduções de alho (*Allium sativum* L.), e um clone de alho-rei (*A. ampeloprasum* L.). Isso foi feito analisando as isoenzimas alcooldesidrogenase (ADH), esterase (EST), peroxidase (PRX) e fosfoglucoisomerase (PGI) através da técnica de eletroforese horizontal em gel de amido hidrolisado de batata. Verificou-se que os clones nacionais e introduzidos se enquadram nos grupos aqui denominados DIKA ou CJLB, respectivamente para os padrões de ADH, EST, PRX e PGI. Entretanto, os padrões CILB, CJKB e CIKB foram observados em alguns clones estrangeiros, sugerindo sua maior variabilidade em relação aos nacionais. O alho-rei apresentou padrões diferentes dos encontrados na espécie *A. sativum* L. A associação dos resultados da técnica de eletroforese de isoenzimas com a caracterização morfológica da parte aérea, bulbos, bulbilhos, coloração externa dos bulbos e bulbilhos e ciclo cultural, permitiu a classificação dos clones nacionais de alho em 19 grupos distintos.

Termos de indexação: eletroforese, isoenzimas ADH, EST, PRX, PGI, alho, caracterização de cultivares.

(1) Trabalho parcialmente apresentado no XXIII Congresso Brasileiro de Olericultura, realizado no Rio de Janeiro (RJ), 18-23 de julho de 1983. Recebido para publicação em 4 de junho de 1984.

(2) Seção de Genética, Instituto Agronômico (IAC), Caixa Postal 28 - 13100, Campinas (SP).

(3) Seção de Hortaliças Diversas, IAC.

(4) Com bolsa de suplementação do CNPq.

1. INTRODUÇÃO

O alho (*Allium sativum* L.) é uma hortaliça de grande importância econômica, sendo utilizado tanto para o consumo in natura como na forma industrializada.

A produção nacional de alho vem crescendo nos últimos anos, atingindo cerca de 69.000 toneladas em 1982, com um incremento aproximado de 18.000 toneladas em relação ao ano anterior. No entanto, há necessidade constante da importação do produto para suprir a demanda interna, principalmente na entressafra. Em vista do crescente aumento na produção nacional, a importação vem sendo mais bem planejada e reduzida, tendo sido importadas 30.706 toneladas em 1980 e 21.063 toneladas em 1981 (ANUÁRIO. . ., 1982).

Diversos são os clones explorados comercialmente. No grupo dos chamados "nobres", destacam-se 'Lavínia', 'Peruano', 'Chinês', 'Chonan' e 'Amarante'. Entre os "não-nobres", os mais conhecidos são: 'Cateto Roxo', 'Cajuru', 'Juréia', 'Branco Mineiro' e 'Centenário'.

Com a crescente demanda do mercado interno e com o estímulo para o incremento da produção visando à auto-suficiência, novas áreas têm sido consideradas potencialmente aptas para a cultura do alho. Como consequência, existe atualmente grande interesse em estudos de competição de clones, no sentido de serem identificados aqueles de melhor adaptação a condições locais específicas.

O alho, espécie assexual e vivípara (VED BRAT, 1965), não produz sementes, sendo, portanto, propagado exclusivamente por via vegetativa através de bulbilhos. Apresenta elevada plasticidade fenotípica, ou seja, o mesmo genótipo ou clone pode apresentar variações morfológicas em resposta a interações com fatores ambientais, como solo, clima, umidade (JONES & MANN, 1983). Por essa razão, são atribuídas diferentes denominações locais a clones iguais, bem como denominações diferentes para o mesmo clone, acarretando problemas para o agricultor, na comercialização e compra de bulbilhos e nos ensaios nacionais de clones nos órgãos de pesquisa. São, portanto, de grande interesse trabalhos que visem identificar e agrupar os clones existentes.

REGINA (1976) considera que o formato e a disposição das folhas são critérios apropriados para a diferenciação de clones no campo. Nesse sentido foram realizados trabalhos caracterizando bulbos, bulbilhos e parte aérea, estabelecendo-se assim chaves para classificação dos clones (SOUZA et alii, 1977, 1978).

Em razão da esterilidade do alho e da sua alta interação com o ambiente, fica difícil associar o genótipo com variações fenotípicas encon-

tradas nos diversos clones. Este trabalho objetivou, assim, utilizar a técnica da eletroforese em gel de amido hidrolisado de batata (BREVER & SING, 1970; SHAW & PRASAD, 1970), com a finalidade de conhecer a variabilidade genética para sistemas isoenzimáticos, complementando os estudos relativos às variações morfológicas além do ciclo cultural.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados caracteres morfológicos e padrões isoenzimáticos de diferentes clones e introduções de *Allium sativum* L. e um clone pertencente à espécie *A. ampeloprasum*, existentes no banco de germoplasma das Seções de Hortaliças Diversas e Genética. Algumas introduções de *A. sativum* originárias da França, Iugoslávia e Estados Unidos foram analisadas somente quanto aos padrões de isoenzimas.

Esse material foi cultivado no Centro Experimental de Campinas, seguindo-se as técnicas culturais normalmente empregadas para essa cultura (BERNARDI, 1967), plantado em parcelas de 2,50m², no espaçamento de 25 x 10cm.

Noventa dias após o plantio, foram realizadas observações quanto à parte aérea, descrevendo-se aspectos relacionados à arquitetura das plantas. Nesse estágio foram também coletadas plantas, cujas folhas e raízes foram utilizadas para determinação de padrões de isoenzimas, através da eletroforese horizontal em gel de amido hidrolisado de batata, segundo MEDINA FILHO (1983) e método adiante descrito. Após classificação de cada clone quanto ao ciclo, em precoce (até quatro meses e meio), médio (até cinco meses e meio) ou tardio (acima de cinco meses e meio), realizou-se a colheita de bulbos, sendo os mesmos curados à sombra por 20 dias. Após esse período, escolheram-se os cinco melhores bulbos de cada clone, analisando-os quanto ao formato lateral e da base, coloração da película externa e inserção basal dos dentes. Os bulbos foram caracterizados como: 1) alongado: eixo longitudinal maior que o transversal; 2) achatado: eixo longitudinal menor que o transversal, e 3) arredondado: os dois eixos são iguais. Em relação ao formato da base, distinguiram-se os seguintes tipos: 1) ovalado ou elítico: quando os dois eixos perpendiculares são diferentes; e 2) circular: quando os dois eixos perpendiculares são iguais. Após a debulha, os bulbilhos foram descritos quanto a coloração, número e ocorrência de palitos.

O equipamento utilizado para a eletroforese em gel de amido é descrito por TANKSLEY (1979). Extratos do material vegetal foram obtidos, macerando-se os tecidos apropriados com bastões de acrílico, em bandejas também de acrílico, adicionando-se 1% de glutathione tamponada, com TRIS (hydroxymethyl) aminomethane, pH 7,0-7,5. O extrato re-

sultante foi absorvido em papel de filtro para eletroforese (Beckman), inserido no gel por vinte minutos a 150 volts, removido e submetido à voltagem de 350 volts por cerca de quatro horas. Foram analisadas as seguintes isoenzimas e respectivas soluções de revelação:

Fosfoglucoisomerase (PGI) – Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) 7mg; Fructose-6-phosphate (F-6-P) 40 mg; [3-(4,5-dimethyl thiazolyl-2)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] (MTT) 10mg; Phenazine methosulfate (PMS) 1 mg; Glucose-6-phosphate dehydrogenase hydrochloride (G-6-PDH) 15 unidades; 50ml TRIS 0,1 M pH 7,5;

Alcooldesidrogenase (ADH) – B-nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) 20mg; MTT 10mg; PMS 1mg; etanol 99% 3ml; 50ml TRIS 0,1 M, pH 7,5;

Esterase (EST) – Fast Blue RR 50 mg; α -naftilbutirato 2% em acetona 1,5ml; 50ml tampão fosfato 0,1 M, pH 6,25;

Peroxidase (PRX) – 3-amino-9-etil carbazole 25mg; H₂O₂ 3% 0,75ml; tampão 0,5 M acetato, pH 4,5.

Os géis de amido foram preparados com tampão TRIS -citrate, pH 8,0 e amido hidrolisado de batata (12%).

Os diferentes padrões de bandas decorrentes da migração diferencial das isoenzimas serão aqui referidos por letras atribuídas arbitrariamente. Dessa maneira estabeleceram-se as letras C e D para os padrões de ADH, I e J para EST, K e L para PRX, e A e B para PGI.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os padrões obtidos para as isoenzimas ADH, EST, PRX e PGI constam na figura 1. Nota-se boa individualização das diferentes bandas das isoenzimas obtidas nos géis, evidenciando ser a técnica adequada para as espécies *A. sativum* L. e *A. ampeloprasum* L. Dos tecidos analisados, verificou-se que as quatro isoenzimas estudadas apresentaram resolução satisfatória em preparações de extremidades de raízes, enquanto três delas (PGI, EST e ADH) são também ativas em tecidos da base dos bulbilhos. Para tecidos de folhas, somente a isoenzima PGI apresentou atividade.

Os padrões obtidos para as quatro isoenzimas nos diversos clones são apresentados no quadro 1. Observa-se que os clones nacionais analisados se classificam predominantemente em dois grupos: a) clones cujos padrões de ADH, EST, PRX e PGI são respectivamente D, I, K, A, e b) os padrões alternativos para essas isoenzimas, ou seja, C, J, L, B.

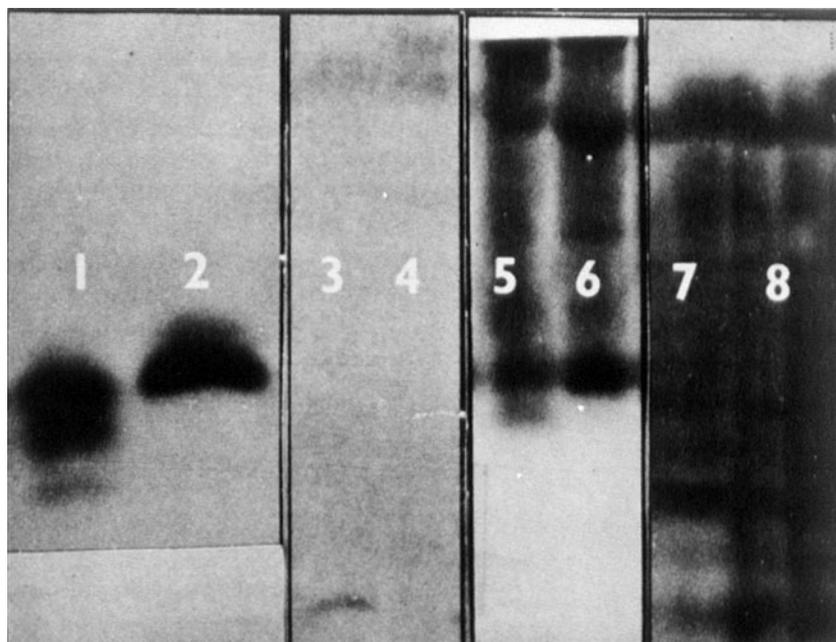


FIGURA 1 – Padrões obtidos pela migração, em géis de amido, de isoenzimas em clones de alho. 1: padrão C de ADH; 2: padrão D de ADH; 3: padrão I de EST; 4: padrão J de EST; 5: padrão K de PRX; 6: padrão L de PRX; 7: padrão A de PGI; 8: padrão B de PGI.

QUADRO 1 – Caracterização isoenzimática de clones nacionais de alho (*Allium sativum* L.), do alho-rei (*Allium ampeloprasum* L.) e de clones de alho (*Allium sativum* L.) recém-introduzidos

Clone	Origem	Padrão de isoenzima			
		ADH	EST	PRX	PGI
Amarante I-3539	IAC	D	I	K	A
Amarante CAC I-4200	IAC	D	I	K	A
Amarante	CNPH	D	I	K	A
Areal Nº 2 I-3968	IAC	D	I	K	A
Assaf I-3703	IAC	D	I	K	A
Barbado I-4654	IAC	C	J	L	B
Bom Repouso I-5095	IAC	D	I	K	A
Branco de Gouveia	CNPH	C	J	L	B

Continua

QUADRO 1 — Continuação

Clone	Origem	Padrão de isoenzima			
		ADH	EST	PRX	PGI
Branco Mineiro	CNPH	C	J	L	B
Caiano Ibiti I-3646	IAC	C	J	L	B
Caiano Mostarda I-2121	IAC	C	J	L	B
Cajuru I-2315	IAC	C	J	L	B
Cajuru	CNPH	C	J	L	B
Campineiro I-1679	IAC	C	J	L	B
Canela de Ema	CNPH	C	J	L	B
Catetinho Paraná I-1274	IAC	D	I	K	A
Cateto Branco	Araras (SP)	C	J	L	B
Cateto Ponte Seca I-2102	IAC	D	I	K	A
Cateto Precoce I-5064	IAC	D	I	K	A
Cateto Roxo I-99	CNPH	D	I	K	A
Centenário I-4205	IAC	C	J	L	B
Centralina	CNPH	C	J	L	B
Chinês I-4653	IAC	D	I	K	A
Chinês	CNPH	D	I	K	A
Chinês	ESALQ	D	I	K	A
Chonan	Araras (SP)	C	J	L	B
Cruzado I-5066	IAC	C	J	L	B
Do Reino I-2118	IAC	C	J	L	B
Dourados	CNPH	D	I	K	A
Formosa I-4713	IAC	D	I	K	A
Gigante Tietê I-4652	IAC	D	I	K	A
Gravatá "A"	CNPH	C	J	L	B
Ihumas "A"	CNPH	C	J	L	B
Juréia	CNPH	C	J	L	B
Lavínia IAC-1632	IAC	D	I	K	A
Lavínia I-3208	IAC	D	I	K	A
Lavínia Andradas	Andradas (MG)	D	I	K	A
Mendonça I-5062	IAC	D	I	K	A
Mineiro I-786	IAC	C	J	L	B
Mineiro II	CNPH	C	J	L	B
Mossoró I	CNPH	C	J	L	B
Peruano	Araras (SP)	D	I	K	A
Piedade	Piedade (SP)	D	I	K	A
Precoce I-2103	IAC	C	J	L	B
Roxinho I-5064	IAC	D	I	K	A
Roxo Capim Branco I-3969	IAC	D	I	K	A
Roxo de Arantes I-3537	IAC	D	I	K	A
Roxo Dourado	CNPH	D	I	K	A
Roxo Mineiro	Araras (SP)	D	I	K	A
Roxo Pérola de Caçador	Moji das Cruzes (SP)	C	J	L	B

Continua

QUADRO 1 – Conclusão

Clone	Origem	Padrão de isoenzima			
		ADH	EST	PRX	PGI
Roxo Tardio I-5065	IAC	C	J	L	B
Sacaia de Goiânia	CNPH	C	J	L	B
Santa Catarina Branco	SC	C	J	L	B
Santa Catarina Roxo	SC	D	I	K	A
São José I-4999	IAC	D	I	K	A
Tatuí I-3705	IAC	D	I	K	A
Vera Cruz I-5001	IAC	D	I	K	A
Vera Cruz I-5004	IAC	D	I	K	A
PI 383819	Iugoslávia	C	J	L	B
PI 383817	Iugoslávia	C	J	K	B
PI 383821	Iugoslávia	C	I	L	B
PI 383822	Iugoslávia	C	J	L	B
PI 383823	Iugoslávia	C	J	L	B
PI 383824	Iugoslávia	C	J	L	B
PI 383831	Iugoslávia	C	I	L	B
PI 383833	Iugoslávia	C	J	L	B
Verna	Estados Unidos	C	I	K	B
PI 354071*	Iugoslávia	C	J		B
PI 362085*	Iugoslávia	C	J		B
Chermidrôme*	França		I		B
Germidour*	França		I		B
Messidrôme*	França		I		B
<i>A. ampeloprasum</i> L. (Rei de Varginha I-4218)	IAC	D ₁	I ₁	L ₁	B

IAC – Instituto Agronômico de Campinas – Campinas (SP).

CNPH – Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças – Brasília (DF).

ESALQ – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Piracicaba (SP).

* Análise isoenzimática incompleta.

Como para cada isoenzima analisada ocorrem somente dois tipos de padrões, para quatro isoenzimas conjuntamente seriam teoricamente possíveis 2^n combinações diferentes, sendo “n” o número de isoenzimas. No caso presente, dezesseis grupos poderiam ocorrer: no entanto, a maioria dos clones se classificaram nos dois grupos já mencionados (D, I, K, A; e C, J, L, B). Interessante foi observar que os clones de alho de ciclo precoce e tardio apresentaram o mesmo padrão, ou seja, C, J, L, B, enquanto todos os clones de ciclo médio apresentaram o padrão D, I, K, A.

Com relação aos clones recentemente introduzidos de outros países, verificou-se a ocorrência de mais três grupos, constituídos dos padrões C, I, L, B, C, J, K, B; e C, I, K, B, respectivamente, para as isoenzimas ADH, EST, PRX e PGL.

Para os clones originários da França, estão ainda incompletas as análises para ADX e PRX. O alho-rei (*A. ampeloprasum* L.) apresentou um padrão bem distinto para cada isoenzima analisada, o que é compreensível, visto tratar-se de uma espécie botânica diferente do alho comum (*A. sativum* L.). Os resultados de alguns dos clones introduzidos sugerem ocorrer maior variabilidade genética em vista das diversas combinações das isoenzimas estudadas.

Quanto aos clones nacionais, nota-se estreita dependência ou associação entre as isoenzimas. Exemplificando, pode-se mencionar que, uma vez definido, o padrão C para ADH num clone, os demais padrões são J, L, B, para as outras isoenzimas. O mesmo princípio se verifica para o grupo D, I, K, A.

Convém salientar que novas isoenzimas devem ser pesquisadas, a fim de que se possa separar os clones em maior número de grupos.

A utilização da eletroforese somente permitiu a diferenciação dos clones nacionais de alho em dois grandes grupos para as quatro isoenzimas analisadas. Associando-se essa técnica com a caracterização morfológica da parte aérea, dos bulbos e dos bulbilhos e com a identificação do ciclo, conseguiu-se a separação dos clones nacionais em maior número de grupos. Como o formato e a disposição das folhas são considerados bons critérios de diferenciação no campo (REGINA, 1976), procurou-se, através da análise visual das plantas, definir o aspecto geral das folhas dos diferentes clones de alho. A variabilidade devida ao ambiente encontrada em cada clone para as medições de ângulo de inserção, largura e coloração das folhas, assim como altura da planta, consideradas em alguns trabalhos como critérios de diferenciação (SOUZA et alii, 1977, 1978), indica que esses parâmetros não são adequados. Por essa razão, é proposta no presente trabalho a separação dos clones nacionais em dez classes, pelo aspecto foliar comparativo (Quadro 2) e representadas nas figuras 2, 3, 4, 5 e 6.

O quadro 3 — classes fenotípicas do aspecto vegetativo, morfologia de bulbos, bulbilhos, ciclo cultural e padrões de isoenzimas, dos clones analisados — mostra que os clones nacionais foram classificados em 19 grupos. Os alhos “nobres” foram incluídos nos grupos 1, 2, 3, 4, 7, 10, 11, 15 e 19. Nos demais grupos, estão os clones “não-nobres” de ciclos precoce, médio e tardio.

QUADRO 2 – Classes fenotípicas, clone típico e respectivas características da parte aérea utilizadas na descrição de clones nacionais de alho

Classes	Clone típico	Características
I	Lavínia	Folhas largas que na maioria se dobram bruscamente.
II	Amarante	Folhas largas que na maioria se dobram harmoniosamente.
III	Cateto Roxo	Folhas largas verde-claras, eretas, as internas voltadas levemente para dentro.
IV	Roxinho	Folhas comparativamente mais largas que as das classes I e II. Planta com aspecto prostrado.
V	Chinês	Folhas eretas que se dobram apenas nas extremidades. Semelhante ao porte do Cateto Roxo, exceto pelo tom verde-claro das folhas do último.
VI	Branco Mineiro	Folhas bem estreitas, verde-claras e dispostas paralelamente ao longo de todo o comprimento. Internódios do pseudocaule bem evidentes.
VII	Centenário	Folhas longas, encurvadas, saindo quase que horizontalmente em relação ao pseudocaule. A maioria das folhas tocam o solo. Internódios pouco evidentes.
VIII	Barbado	Folhas estreitas saindo horizontalmente em relação ao pseudocaule, mas a planta possui aspecto reduzido.
IX	Roxo Tardio	Folhas estreitas, aspecto da inserção das folhas intermediário entre os clones Centenário e Branco Mineiro.
X	Chonan	Folhas estreitas, eretas, cerosas e inseridas praticamente num ponto do pseudocaule.

Analisando-se isoladamente bulbos e bulbilhos, parte aérea, ciclo e padrões de isoenzimas, haveria apenas 8, 10, 3 e 2 grupos respectivamente para os clones nacionais. Exceção feita às isoenzimas, essas características analisadas conjuntamente permitem a separação em 19 grupos. Todavia, a simples observação do padrão DIKA, em bulbilhos, identifica o clone como pertencente ao ciclo médio. Como a análise isoenzimática dos clones introduzidos mostrou diferentes combinações, o fato sugere que a análise das isoenzimas foi útil nesse estudo, havendo, portanto, possibilidade que outras isoenzimas a serem analisadas no futuro separem os clones nacionais em maior número de grupos.

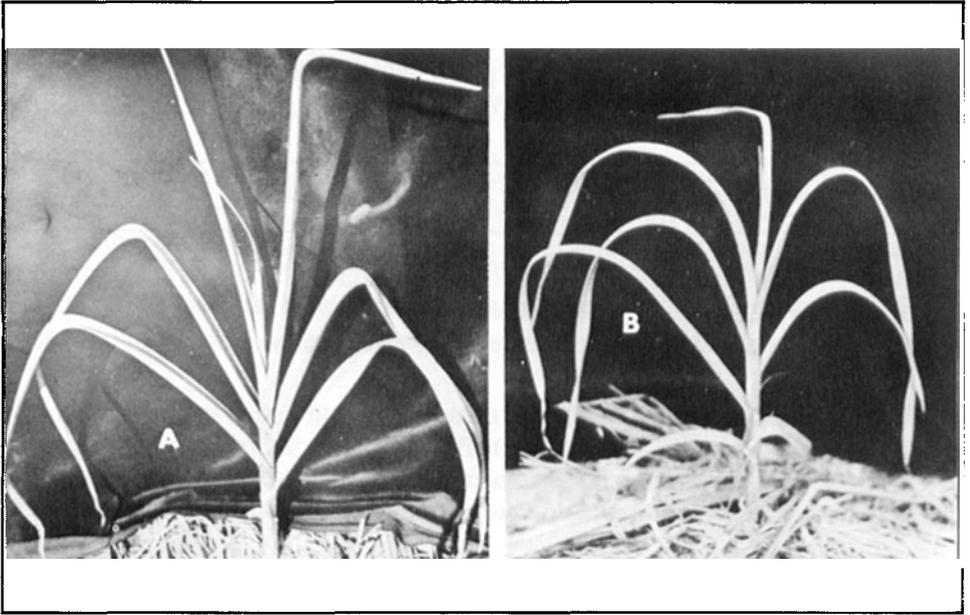


FIGURA 2 — Aspecto geral das folhas de plantas de alho: A: Folhagem representativa da classe I: clone típico — Lavínia. B: Folhagem representativa da classe II: clone típico — Amarante.

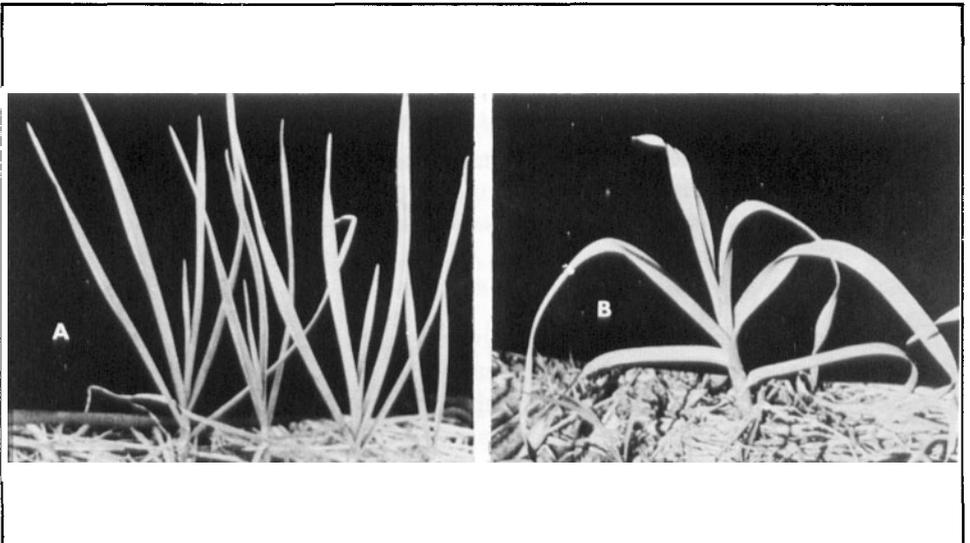


FIGURA 3 — Aspecto geral das folhas de plantas de alho: A: Folhagem representativa da classe III: clone típico — Cateto Roxo. B: Folhagem representativa da classe IV: clone típico — Roxinho.

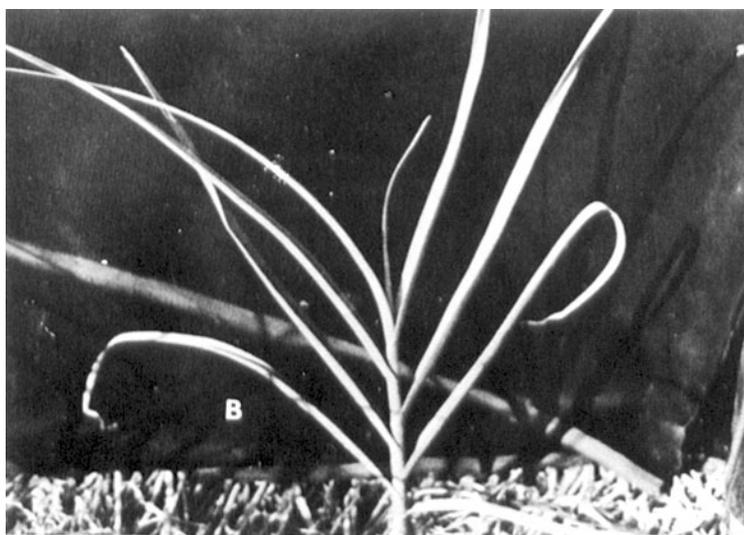
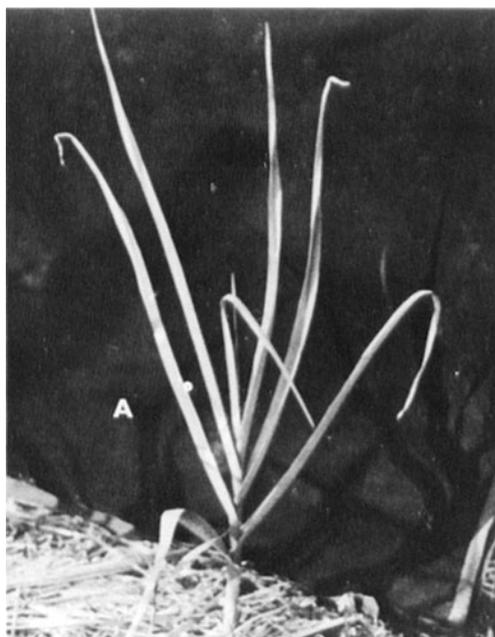


FIGURA 4 – Aspecto geral das folhas de plantas de alho: A: Folhagem representativa da classe V: clone típico – Chinês. B: Folhagem representativa da classe VI: clone típico – Mineiro.

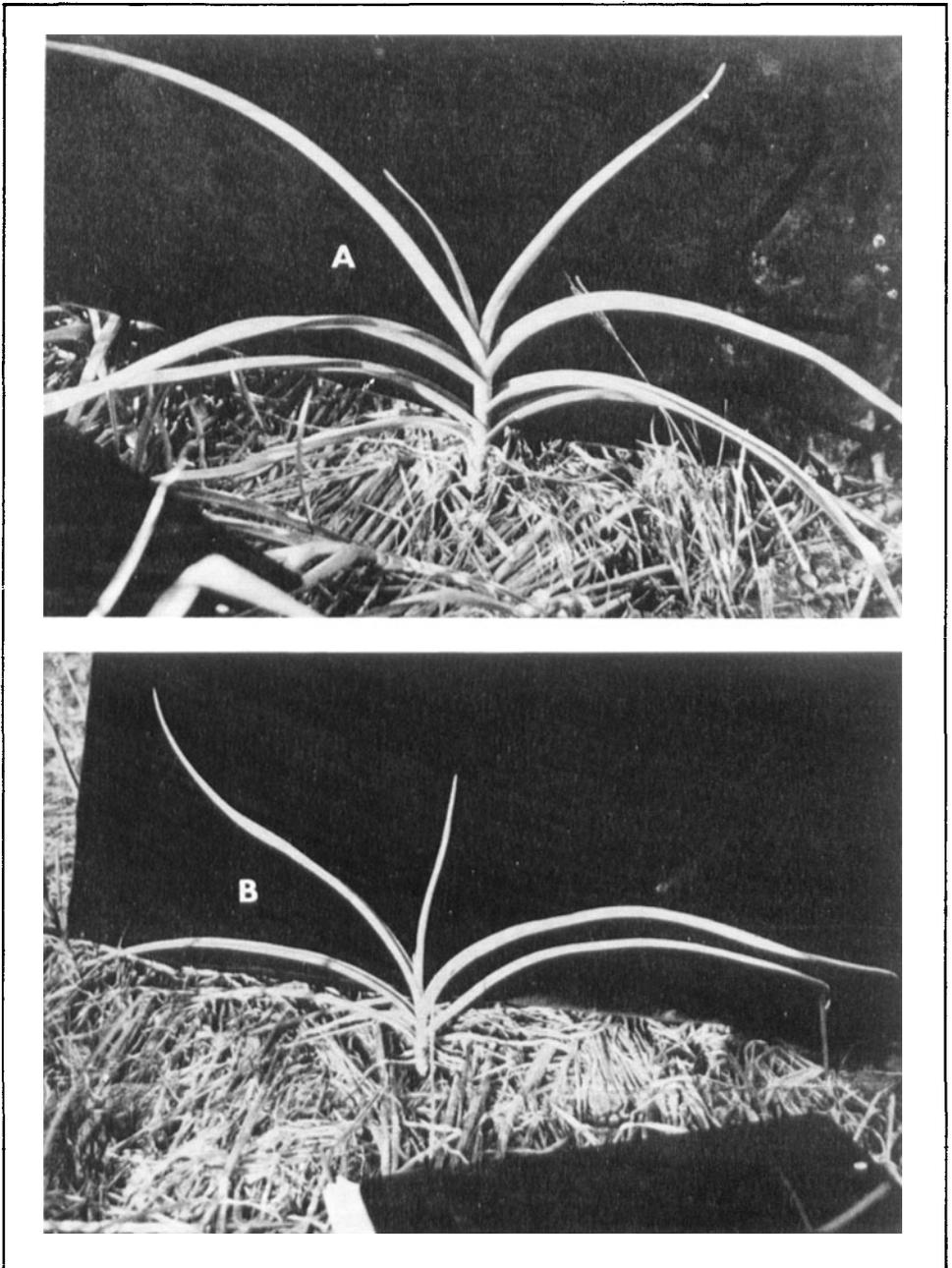


FIGURA 5 – Aspecto geral das folhas de plantas de alho: A: Folhagem representativa da classe VII: clone típico – Centenário. B: Folhagem representativa da classe VIII: clone típico – Barbado.

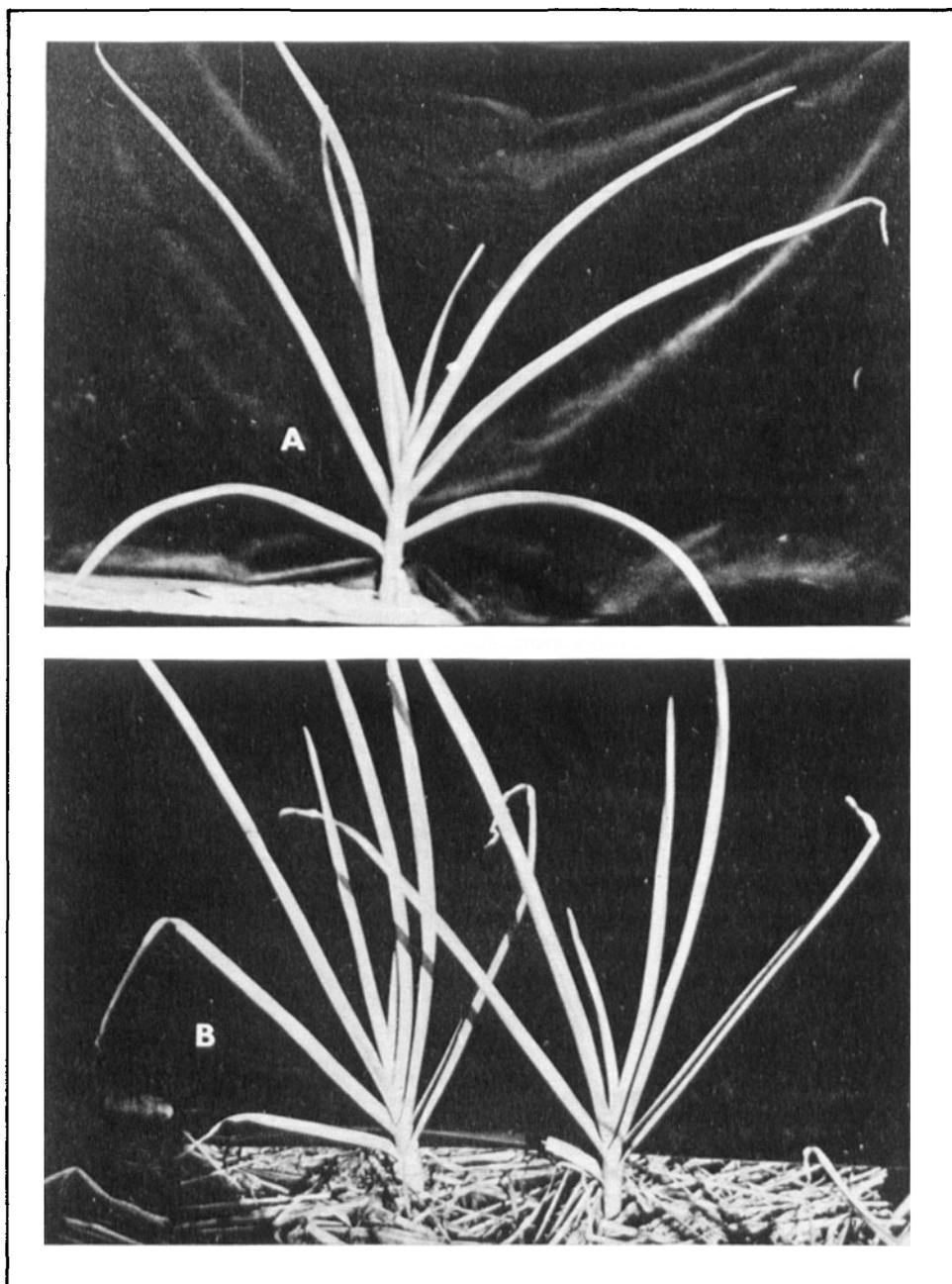


FIGURA 6 – Aspecto geral das folhas de plantas de alho: A: Folhagem representativa da classe IX: clone típico – Roxo Tardio. B: Folhagem representativa da classe X: clone típico – Chonan.

QUADRO 3 – Caracterização isoenzimática e morfológica de clones nacionais de alho

Padrão de isoenzimas	Aspecto vegetativo (Classes)	Ciclo	Características morfológicas de bulbos, bulbilhos, coloração (capa e bulbilhos)	Grupo	Clones
DIKA	I	Médio	Bulbos alongados, base ovalada, capa arroxeadada, inserção basal irregular dos bulbilhos, bulbilhos arroxeados, em número de 15-20, e ausência de palitos.	1	Lavínia IAC-1632; Lavínia I-3208; Piedade; Mendonça I-5062; Catetinho Paraná I-1234 e Cateto Precoce I-5064.
DIKA	I	Médio	Idem ao anterior; exceto no número de bulbilhos, 10-15.	2	São José I-4999; Gigante de Tietê I-4652; Bom Repouso I-5085 e Tatuf I-3705.
DIKA	II	Médio	Idem ao anterior, mas com 8-12 bulbilhos.	3	Roxo de Arantes I-3537; Amarante CAC I-4200 e Peruano Araras.
DIKA	II	Médio	Idem ao anterior, menos no número de bulbilhos, 10-15.	4	Amarante I-3539; Chinês-ESALQ e Amarante - CNPH.
DIKA	II	Médio	Idem ao anterior, exceto pelo número de bulbilhos, 20-30, e pela presença de palitos.	5	Roxo Capim Branco I-3969.
DIKA	II	Médio	Idem ao anterior, porém com 30-45 bulbilhos.	6	Santa Catarina Roxo e Roxo Mineiro – Araras.
DIKA	III	Médio	Bulbos alongados, base ovalada, capa arroxeadada, inserção basal irregular dos bulbilhos, que são arroxeados, em número de 8-12, ausência de palitos.	7	Assaí I-3703
DIKA	III	Médio	Idem ao anterior, exceto pelo número de bulbilhos, 20-30, e pela presença de palitos.	8	Areal Nº 2 I-3968
DIKA	III	Médio	Idem ao anterior, mas com 30-45 bulbilhos.	9	Cateto Roxo I-99; Cateto Ponte Seca I-2102; Dourados – CNPH; Roxo Dourado-CNPH e Lavínia – Andradadas.
DIKA	IV	Médio	Bulbos alongados, base ovalada, capa arroxeadada, inserção basal irregular dos bulbilhos, arroxeados, 15-20, e ausência de palitos.	10	Roxinho I-5063; Vera Cruz I-5001 e Vera Cruz I-5004.
DIKA	V	Médio	Idem ao anterior, mas com 10-15 bulbilhos.	11	Chinês I-4653; Formosa I-4713 e Chinês – CNPH.
CJLB	VI	Precoce	Bulbos achatados, base circular, capa branca, inserção basal regular dos bulbilhos, arroxeados, 20-30, e ausência de palitos.	12	Do Reino I-2118; Precoce I-2103 e Ihumas-‘A’ – CNPH.

Continua

QUADRO 3 – Conclusão

Padrão de isoenzimas	Aspecto vegetativo (Classes)	Ciclo	Características morfológicas de bulbos, bulbilhos, coloração (capa e bulbilhos)	Grupo	Clones
CJLB	VI	Precoce	Idem ao anterior, mas com presença de palitos.	13	Cajuru I-2315; Cajuru - CNPH; Juréia - CNPH; Branco de Gouveia - CNPH; Branco Mineiro - CNPH; Mineiro II - CNPH; Canela de Ema - CNPH; Mossoró - CNPH; Centralina - CNPH; Gravata- -A' - CNPH e Santa Catarina Branco.
CJLB	VI	Precoce	Idem ao anterior, mas com 30-40 bulbilhos.	14	Sacaia de Goiânia - CNPH e Cateto Branco - Araras.
CJLB	VI	Precoce	Bulbos achatados, base circular, capa branca, inserção basal regular dos bulbilhos, que são arroxeados-claro, 15-20, bem achatados lateralmente, e ausência de palitos.	15	Mineiro I-786.
CJLB	VII	Tardio	Bulbos achatados, base circular, capa branca, inserção basal regular dos bulbilhos, arroxeados-claros, 20-30, e presença de palitos.	16	Centenário I-4205.
CJLB	VIII	Tardio	Idem ao anterior, mas com plantas menos vigorosas do que as das classe VII.	17	Barbado I-4654 e Caiano Mostarda I-2121.
CJLB	IX	Tardio	Bulbos achatados, base circular, capa branca, inserção basal regular dos bulbilhos, arroxeados, 30-40, e presença de palitos.	18	Roxo Tardio I-5065; Campineiro I-1679; Caiano Ibiti I-3646 e Cruzado I-5066.
CJLB	X	Tardio	Bulbos arredondados, base circular, capa branca, inserção basal regular dos bulbilhos, roxos, 8-15, com ausência de palitos e com sensibilidade ao pseudoperfilhamento.	19	Chonan - Araras, e Roxo Pérola de Caçador - Moji das Cruzes.

É importante ressaltar que os clones 'Catetinho Paraná' e 'Cateto Precoce', apesar de denominados Cateto, apresentam todas as características do clone "nobre" 'Lavínia'. Por outro lado, o clone denominado 'Lavínia', originário de Andradas, apresenta todas as características do clone 'Cateto Roxo', analisadas conjuntamente, estando incluído no grupo 9.

Outro caso é o recente lançamento na região produtora de Araras (SP) do clone 'Cateto Branco' como sendo uma variação do 'Cateto Roxo'. Entretanto, os resultados deste trabalho mostram que ele é semelhante ao 'Sacaia de Goiânia' (grupo 14), diferindo, assim, do 'Cateto Roxo' (grupo 9), não só pelos aspectos morfológicos e ciclo cultural, como também pelos padrões de isoenzimas. Nesse caso, a análise de isoenzimas já permitiria excluir a possibilidade de o clone 'Cateto Branco' ter sido originado do 'Cateto Roxo'. Essas observações indicam que é improvável ter ocorrido mutações concomitantes para várias características morfológicas da parte aérea e quatro padrões de isoenzimas. De outra maneira, o clone 'Assaf' (grupo 7) pode ser uma mutação do 'Cateto Roxo' para número menor de bulbilhos, visto que todos os demais caracteres estudados, inclusive isoenzimas, são idênticos ao 'Cateto Roxo'.

Esses exemplos evidenciam a necessidade de continuar os estudos para a caracterização de clones de alho.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos na caracterização morfológica e isoenzimática de clones de alho, pode-se concluir que:

a) A técnica de eletroforese empregada para as espécies *A. sativum* L. e *A. ampeloprasum* L. foi satisfatória, pois permitiu boa visualização das bandas das quatro isoenzimas estudadas;

b) Dos tecidos analisados, as extremidades das raízes apresentaram resolução satisfatória de bandas para as isoenzimas fosfoglucoisomerase (PGI), esterase (EST), alcooldesidrogenase (ADH) e peroxidase (PRX), enquanto três delas (PGI, EST e ADH) foram ativas em tecidos da base dos bulbilhos. Quanto aos tecidos de folhas, apenas a isoenzima PGI apresentou atividade;

c) Através da análise isoenzimática, os clones nacionais de alho de ciclo médio apresentaram o padrão DIKA de acordo com os padrões de bandas obtidos pelas isoenzimas ADH, EST, PRX e PGI, e CJLB para os clones de ciclos precoce e tardio;

d) Diferentes combinações entre os padrões de isoenzimas foram obtidas por alguns clones importados, ou seja, CILB, CJKB e CIKB, evidenciando ocorrer maior variabilidade em comparação aos clones nacionais;

e) O alho-rei (*A. ampeloprasum* L.) apresentou padrões eletroforéticos bastante distintos dos encontrados para a espécie *A. sativum* L., em relação às isoenzimas estudadas;

f) A associação dos resultados obtidos pela análise morfológica, da parte aérea dos bulbos e bulbilhos, ciclo cultural e análise de isoenzimas, permitiu a classificação dos clones nacionais de alho em 19 grupos;

g) Os alhos "nobres" foram incluídos nos grupos 1, 2, 3, 4, 7, 10, 11, 15 e 19, e, nos demais grupos, os clones "não nobres" de ciclos precoce, médio e tardio.

SUMMARY

MORPHOLOGICAL AND ELECTROPHORETIC CHARACTERIZATION OF GARLIC CLONES

Since there exist different local names for the same garlic (*Allium sativum* L.) clones, it was made an attempt to distinguish them by the morphology, cycle and isozyme electrophoresis. The isozyme analysis of alcoholdehydrogenase, esterase, peroxydase and phosphoglucoisomerase separated the Brazilian clones in two groups. The foreign clones had different band patterns adding other three more groups. Morphology of bulbs and clones allowed the separation of clones into eight groups; top morphology into ten and cycle length into three. Morphology, cycle and electrophoresis together characterized the seventy two analysed clones into nineteen distinct groups.

Index terms: electrophoresis, isozymes ADH, EST, PRX, PGI, garlic, cultivar characterization.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. Rio de Janeiro, Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, v.43, 1982.
- BERNARDI, J. B. Instruções para o cultivo do alho. Campinas, Instituto Agrônomo, 1967. 23p. (Boletim, 173)
- BREWER, J. G. & SING, C. F. An introduction to isozymes techniques. New York, Academic Press, 1970. 186p.
- JONES, H. A. & MANN, L. K. Onions and their allies: botany, cultivation and utilization. New York, Interscience Publishers, INC. 1983. 286p.
- MEDINA FILHO, H. P. Eletroforese em gel de amido: aplicações em genética e melhoramento de plantas. Campinas, Instituto Agrônomo, 1983. 15p. (Circular, 121)
- REGINA, S. M. Informações técnicas para a cultura do alho (*Allium sativum* L.). Belo Horizonte, ACAR, 1976. 38f. (mimeografado)
- SHAW, G. R. & PRASAD, R. Starch gel electrophoresis of enzymes — a compilation of recipes. *Biochemical Genetics*, 4:297-320, 1970.

- SOUZA, R. J. de; MASCARENHAS, M. H. T.; SATURNINO, H. M. & LARA, J. F. R. Caracteres morfológicos de 18 cultivares de alho (*Allium sativum* L.). In: PROJETO de Olericultura; relatório anual 75/76, Belo Horizonte, EPAMIG, 1977. p.39-43.
- ; SATURNINO, H. M.; MASCARENHAS, M. H.T. & LARA, J. F. R. Caracteres morfológicos de 17 cultivares de (*Allium sativum* L.). In: PROJETO de Olericultura; relatório anual 76/77, Belo Horizonte, EPAMIG, 1978. p.34-37.
- TANKSLEY, S. D. An efficient and economical design for starch-gel electrophoresis. Report of the Tomato Genetics Cooperative, 29:37-38, 1979.
- VED BRAT, S. Genetic systems in *Allium*. III. Meiosis and breeding systems. Heredity, 20:325-39, 1965.