

genômico e uma unidade de *Taq* DNA polimerase. Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose (1,4%), contendo 25µg/100mL de brometo de etídeo. Foi possível concluir que as amostras pertencem a três genótipos: Genótipo 1: H13 e H21 Genótipo 2: H1006 Genótipo 3: H14.

GMV026 - RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA (RAPD) MARKERS VARIABILITY AMONG CULTIVARS AND LANDRACES OF COMMON BEANS (*PHASEOLUS VULGARIS* L.) OF SOUTH-BRAZIL. MACIEL, F. L.; GERALD, L. T. S.; ECHEVERRIGARAY, S. Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São Carlos, Araras, SP, Brasil e Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil. e-mail: fa.bio@terra.com.br

To evaluate the variability among cultivars and landraces of common bean BEANS (*Phaseolus vulgaris* L.), 15 cultivars and 18 landraces of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), a undefined species of *Phaseolus*, two landraces of *Vigna angularis* L., and a landrace of soybean (*Glycine max* L.), were screened with fifteen oligonucleotide primers in PCR reactions. An average of 20.3 RAPD bands were scored per primer. A total of 304 amplification products were scored of which 88.8% were polymorphic among *Phaseolus* genotypes. Based on the RAPD markers, four major clusters were formed. Three clusters corresponded to the soybean, to the two *Vigna angularis* landraces, and to the *Phaseolus* sp. landrace, respectively. The fourth cluster include all the landraces and cultivars of *Phaseolus vulgaris*. This large group could be separated into three subgroups that were correlated with the phaseolin patterns and the average seed weight of the genotypes. The analysis shows that most of the landraces collected in South Brazil (17 out of 18) belong to the Andean gene pool, and most of the cultivars (13 out of 15) belong to the Middle American gene pool. Research supported by FAPESP

GMV027 - UTILIZAÇÃO DE MARCADORES SSR COMO FERRAMENTA AUXILIAR NA ANÁLISE DE FATORES ASSOCIADOS À DUREZA DO GRÃO EM MILHO. MAKI, C. S.; CARNEIRO, N. P.; GUIMARÃES, C. T.; PAIVA, E. Núcleo de Biologia Aplicada, Embrapa Milho e Sorgo (CNPMS), Sete Lagoas, MG. e-mail: csmaki@hotmail.com

A dureza do grão em milho (*Zea mays* L.), é uma característica de grande importância agrônômica, e os fatores que determinam este caráter nos grãos ainda não é conhecido. As mutações conhecidas que conferem endosperma farináceo (mole) em milho, estão geralmente associadas à alta qualidade nutricional e baixos níveis de zeínas (proteínas de reserva), ao contrário dos genótipos normais. No entanto, foram identificados mutantes indígenas de endosperma farináceo associados a baixa qua-

lidade nutricional e níveis elevados de zeínas, à semelhança dos genótipos normais. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi iniciar um estudo com estes genótipos indígenas, que, por serem diferentes de todos os mutantes descritos até agora, constituem uma ferramenta potencial para o estudo dos fatores envolvidos na determinação do caráter dureza do grão em milho. Um destes mutantes indígenas de endosperma farináceo (BOL II), foi cruzado com um genótipo normal de endosperma duro (HS 201M) e as plantas F_2 deste cruzamento foram autofecundadas sucessivamente até a geração F_5 . Bulks de DNA de plantas homocigotas duras e homocigotas farináceas em gerações F_4 e F_5 foram analisadas por meio de marcadores do tipo microsátélites ou *Simple Sequence Repeats* (SSR). Dentre os 350 pares de *primers* SSR analisados, quatro marcadores (MAG.T01.D04, bngl 125, bngl 381 e phi 083) foram identificados como sendo polimórficos quando os bulks farináceo e mole foram comparados. Este resultado é uma forte indicação de que o caráter esteja mapeado próximo a esses marcadores, no cromossomo 2 (*bins* 2.00 a 2.04). Porém, a identificação de mais marcadores poderia estar sendo prejudicada devido ao fato de que o genótipo parental HS-201M é um híbrido (heterocigoto para vários marcadores). Por este motivo, foi feito um novo *screening* de *primers* polimórficos entre a linhagem $L_{237/67}$ (endosperma duro) e o genótipo indígena BOL II (endosperma farináceo). Neste novo *screening* já foram encontrados 31 marcadores SSR polimórficos entre esses pais contrastantes para dureza do grão, que serão os primeiros candidatos a serem testados na população F_2 para mapeamento dos *loci* associados à dureza do grão em milho. No momento, novos cruzamentos envolvendo outros genótipos indígenas e a linhagem $L_{237/67}$ já foram iniciados. Órgão financiador: PRONEX/FINEP

GMV028 - OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO E AMPLIFICAÇÃO DE DNA DE THEOBROMA CACAO L. VISANDO A OBTENÇÃO DE MARCADORES RAPD. ARAÚJO, I.S.; BAHIA, R.C.; SANTOS, R.F.; FALEIRO, F.G.; AHNERT, D. (Laboratório de Biotecnologia - Centro de Pesquisas do Cacau - CEPEC/CEPLAC, C.P. 07, 45600-000, Itabuna-BA.)

Vários procedimentos de extração e amplificação de tecidos vegetais têm sido descritos na literatura. Entretanto dependendo da espécie em estudo e das condições laboratoriais, são necessárias algumas modificações e adaptações nos protocolos para a obtenção de padrões nítidos e reprodutíveis de bandas de DNA. Em cacau, devido ao alto nível de polifenóis e a presença de mucilagens foliares, o procedimento de extração e amplificação de DNA é mais complexo e otimizações do processo podem facilitar a operacionalização. Nesse sentido foram realizados diferentes testes para ajustar as metodologias de extração e amplificação de DNA de *T. cacao*. Os testes foram realizados a partir da metodologia