

the current Embrapa Maize and Sorghum breeding program and to develop a genetic profile for the commercial hybrids. For this purpose, we screened 230 SSR primer pairs (Research Genetics, Inc.) in order to choose those that generate good amplification patterns. Selected primers were used to amplify genomic DNA of 22 maize inbred lines and 24 hybrids derived from those inbred lines, including commercial ones. PCR products were resolved in 8% non-denaturing polyacrylamide gels stained with ethidium bromide. Gel images were captured by the Eagle-Eye System and the size of each allele was estimated using the RFLPscan Gel Analysis Software 2.1 with 100 bp ladder as size standard. Polymorphic index contents (PIC) were estimated for each SSR locus. PIC value measures the discriminatory power of a SSR locus, considering the number and the relative frequency of the expressed alleles. PCR patterns were also used to evaluate genetic distances among maize elite inbred lines. Genetic distance matrix was used to construct dendrograms using the UPGMA method. Maize elite genotypes were characterized by 74 easily scorable SSRs loci, generating a genetic profile of Embrapa's maize elite germplasm. This study indicates that SSRs may be the optimum approach for the identification and characterization of maize genotypes, compared to other methods currently available. The tropical maize SSR profiles can be readily applied for measuring and monitoring genetic diversity, for supporting Intellectual Property Protection and for future strategies in molecular breeding. This work was supported by grants from PRONEX, CNPq, and SEP/EMBRAPA.

06.02-024 NON MENDELIAN SEGRAGATION IN TRANSGENIC PLANTS. Romano E., Rodrigues K., Proite K., Monte D., Aragão F. EMBRAPA-CENARGEN, romano@cenargen.embrapa.br.

Genes transformed into plants are usually inherited in a regular Mendelian fashion. However, several reports have described transformants in which the transgenes fails to segregate in a simple Mendelian pattern. We have generated hundreds of transgenic beans and soybeans by the biolistic technique. About 10% of the transgenic plants do not transmitted the exogenous genes to the progeny or transmitted in a ratio not expected by Mendelian manner. In this study, we analyzed two non mendelian transgenic lines: I) The transgenic bean line 158, obtained by transformation with pMD4 vector containing the gene block *Rep-TrAP-REN*, from the bean golden mosaic virus (BGMV) genome in antisense orientation and the *gus* gene. This plant is immune to BGMV and the progeny showed complete absence of the introduced DNA. II) The transgenic soybean line 33-3 obtained with pAG1 vector, containing the *ahas* genes that confers resistance against the herbicide imazapyr. Self-pollination of this plant showed a deficiency of transgenic plants (10 AHAS^S : 1 AHAS^R). In subsequent generations, the segregation ratio stabilized at 1 AHAS^S : 1 AHAS^R. The number of seeds per silique was reduced by 50% in this line. Such exceptional segregations ratios could result from a variety of mechanisms. The complete absence of the introduced DNA in 158 line progeny could be result of normal segregation from a chimeric plant or by disruption of genes during the plasmid integration in the transformation process. To address this question, microgametophyte *gus* analysis was performed. This assay showed the normal ratio expected for one transgenic locus, (1 *gus*⁺ : 1 *gus*⁻). Thus, we concluded that the distorted segregation observed is not a consequence from a chimeric transgenic plant and probably caused by disruption of genes related with gametogenesis and/or embryogenesis. In order to isolate these genes, we have been using the plasmid rescue approach. Three clones were obtained from each plant. Sequencing analysis of these clones revealed new open reading frames probably related with the non mendelian phenotype. Our results suggests that 158 and 33-3 lines contain plasmid-insertions that delete or disrupt genes related with gametophytic growth and/or development. The next step in this study will be the transformation of bean and soybean with antisense versions of the isolated ORFs obtained in this work.

06.02-025 USO DE MARCADORES MOLECULARES RFLP E AFLP NO ESTUDO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DO DENDEZEIRO (*Elaeis guineensis* Jacq. e *E. oleifera* (Kunth) Cortés). E. Barcelos; R. N. V. da Cunha; B. Nouy e N. R. Sousa. Embrapa Amazônia Ocidental/Manaus - barcelos@cpaa.embrapa.br

A Embrapa Amazônia Ocidental dispõe de uma ampla coleção de germoplasma de dendezeiro, compreendendo 296 acessos da espécie africana *E. guineensis* e 182 acessos da espécie americana *E. oleifera*, ocupando um total de 48 hectares de área experimental. A correta caracterização e avaliação da coleção é de grande importância para gestão e uso eficiente do recurso genético conservado, entretanto caracterizar coleções de espécies perenes com base em descritores morfológicos e agrônômicos representa um trabalho longo e oneroso, além de problemas como baixa capacidade de discriminação interpopulacional para o caso do dendezeiro. Com o objetivo de estudar a estrutura e o nível de variabilidade genética presente na coleção, empregaram-se marcadores moleculares RFLP e AFLP como ferramentas. RFLP foi determinado pela utilização de 37 sondas cDNA em amostras representando uma ampla cobertura da área de ocorrência

06.02 - GENÉTICA MOLECULAR VEGETAL

do gênero *Elaeis*, sendo 38 plantas provenientes de 23 populações de dendê africano e 241 plantas originárias de 81 populações naturais de dendezeiro americano. Na análise de AFLP foram empregados 3 pares de enzima/primer numa sub-amostra formada por 24 plantas da espécie africana e 42 da americana. Os dados obtidos foram submetidos a análise multivariada e também utilizados para estimar parâmetros de genética de população. Os resultados indicaram uma forte estruturação da diversidade genética segundo a origem geográfica para as duas espécies. A espécie americana apresentou variabilidade genética ($He=0,225$) representada pelo Índice de Diversidade de Nei (1973) estimado com dados de RFLP, superior ao da espécie africana ($He=0,135$). As técnicas RFLP e AFLP apresentaram resultados concordantes, revelando a mesma estruturação da diversidade genética para as amostras analisadas das duas espécies. Órgão financiador: Embrapa/CIRAD/ORSTOM/PPG7.

06.02-026 MELHORIA NA QUALIDADE DO DNA DE ABACAXIZEIRO PELO USO DE CARVÃO ATIVADO DURANTE O PROCESSO DE EXTRAÇÃO. Leonardo Paresqui¹, Bivanilda A. Tapias¹, Terezinha A. Teixeira² e Laercio Zambolim¹. (¹Depto. de Fitopatologia, ²Depto. de Fitotecnia - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. CEP: 36571-000).

O progresso na identificação de genes e construção de mapas genéticos é condicionado pela disponibilidade de um método simples e eficiente para a extração de DNA genômico. Os poucos protocolos que têm sido descritos com este objetivo podem obter uma alta qualidade do DNA, mas nenhum deles, simultaneamente, minimizam tempo, custos, reagentes e material vegetal. Polissacarídeos e outros componentes celulares que não são totalmente eliminados durante o processo de extração podem inibir a ação da DNA polimerase. Neste trabalho foram realizados experimentos para melhorar a qualidade do DNA de abacaxizeiro, bem como estabelecer qual a região da folha que apresenta maior rendimento de DNA (área clorofilada ou área aclorofilada). Por meio de modificações no método CTAB obteve-se um processo eficiente para a extração de DNA de abacaxizeiro. A principal alteração foi a utilização de carvão ativado para a eliminação de compostos coloridos e resinas que se ligam ao DNA. Para avaliar a ação do carvão ativado na eficiência de amplificação de segmentos de DNA, foi utilizada a técnica de amplificação ao acaso de DNA polimórfico ("RAPD"). *Primers* decaméricos da Operon Technologies foram utilizados para comparar as amostras de DNA extraídas de regiões clorofilada e aclorofilada de folhas de abacaxizeiro na presença e ausência de carvão ativado. Os resultados demonstram que a região aclorofilada da folha apresenta maior rendimento de DNA. Em termos de amplificação, o uso do carvão ativado durante o processo de extração de DNA possibilitou uma melhor amplificação por meio da técnica de RAPD.

06.02-027 DISCRIMINAÇÃO DE RAÇAS PRIMITIVAS DE PUPUNHA (*Bactris gasipaes*) NA AMAZÔNIA BRASILEIRA COM MARCADORES MOLECULARES (RAPDs). Doriane B. Picanço¹; Nelcimar R. Sousa²; Charles R. Clement³; Eduardo O. Nagao¹ & Spartaco Astolfi-Filho¹. ¹Inst. Ciências Biológicas, Univ. Amazonas, 69077-000 Manaus, AM; ²Embrapa Amazônia Ocidental, Cx. P. 319, 69011-970 Manaus, AM; ³Inst. Nac. Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM.

A pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth, Palmae) foi domesticada por seu fruto pelos primeiros povos da Amazônia Ocidental, possuindo um complexo de raças primitivas (landraces) parcialmente caracterizado e mapeado morfológicamente. Ao longo dos rios Amazonas e Solimões, no Brasil, foram propostas três raças primitivas [Pará (Rio Amazonas), Solimões (baixo e médio Rio Solimões), Putumayo (alto Rio Solimões)], com indicações de que a raça Solimões poderia ser artefato de análise morfométrica. Marcadores RAPDs foram usados para avaliar a hipótese de três raças. Extraíu-se DNA (kit DNAsy Quiagen) de 30 plantas de cada raça mantida no BAG Pupunha em Manaus, AM, Brasil. Na amplificação por PCR, 8 primers (Operon) geraram 80 marcadores, cujas similaridades de Jaccard foram estimadas para agrupamento das plantas com UPGMA, após descarte de 2 plantas em cada lado dos geis (3 Pará; 6 Putumayo). O dendrograma conteve 2 grandes grupos que juntaram-se a uma similaridade de 0,535: o grupo da raça Pará conteve 26 plantas dessa raça, 5 da Putumayo e 1 da Solimões; o grupo do Rio Solimões conteve 29 plantas da raça Solimões, 19 da Putumayo e 1 da Pará. A estrutura do segundo grupo sugere que existe apenas uma raça, pois as plantas amostradas são misturadas em sub-grupos sem ordem aparente. A intrusão de plantas estranhas em cada grupo poderia ser erro de plantio, de coleta ou de manipulação; estas plantas precisarão ser reanalisadas futuramente. A análise genética não apoia a hipótese de três raças e sugere que a raça Putumayo estende-se ao longo do Rio Solimões até Amazônia central. Será necessário juntar dados genéticos com morfológicos para avaliar esta nova hipótese com mais precisão. Apoio do Programa Piloto de Proteção das Florestas Tropicais do Brasil - PP/G7 - Projetos FINEP nº 0930/95 e 0869/95