

**061. DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES MICROSSATÉLITE PARA A IDENTIFICAÇÃO DE CULTIVARES BRASILEIRAS DE *Coffea arabica* L..** E.S.N. Vieira<sup>1</sup>; E.V.R. Von Pinho<sup>1</sup>; D.G. Esselink<sup>2</sup>; M.G.G.C. Vieira<sup>1</sup>; B. Vosman<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Universidade Federal de Lavras, Caixa Postal 37, CEP 37200-000, Lavras-MG, Brasil, e-mail: sementes@ufla.br; <sup>2</sup>Plant Research International, Caixa Postal 16, 6700AA, Wageningen, The Netherlands, e-mail: ben.vosman@wur.nl).

RESUMO - Marcadores microsatélite têm provado ser uma excelente ferramenta para a identificação de cultivares e estudos da relação genética entre plantas. Cento e quarenta marcadores microsatélite foram utilizados para analisar a similaridade genética entre vinte e cinco cultivares de *Coffea arabica*, sendo dezenove cultivares brasileiras de importância econômica e seis híbridos indianos de *Coffea arabica*, *Coffea canephora* e *Coffea liberica*. Do número total de marcadores microsatélite testados, cento e vinte e sete marcadores nucleares foram desenvolvidos a partir de seqüências obtidas mediante a construção de bibliotecas genômicas, e seqüências microsatélite específicas para *Coffea arabica* disponíveis no banco de dados NCBI. e treze marcadores desenvolvidos a partir do DNA de cloroplasto foram testados. Vinte e dois locos foram polimórficos, com 2-7 alelos detectados para cada loco, sendo 3,5 o número médio de alelos por loco. O loco Caga001 se mostrou como sendo o mais discriminativo para as cultivares brasileiras, apresentando 4 fenótipos alélicos e número efetivo de alelos igual a 1,9. A maioria dos locos microsatélite continha repetições de di-nucleotídeos GT, estando o polimorfismo positivamente correlacionado com o número de repetições. Baseado no padrão de bandas gerado pelos locos polimórficos, as vinte e cinco cultivares foram separadas em dois grandes grupos, sendo um grupo composto pela maioria das cultivares brasileiras e um segundo composto pelos híbridos indianos. Muitos mutantes de cor de fruto não puderam ser separados. O agrupamento está de acordo com a genealogia das cultivares e mostrou um elevado nível de similaridade genética entre as cultivares brasileiras, indicando a necessidade de novas introduções ou cruzamentos entre cultivares mais distintas nos futuros programas de melhoramento de café no Brasil.

Palavras-chave: SSR, café, similaridade genética, marcador molecular.

Revisores: Renato Mendes Guimarães (UFLA); Stella D.V. Franco da Rosa (Embrapa Café).

**062. AMOSTRAGEM SEQUENCIAL E MARCADORES DE MICROSSATÉLITES NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE GENÉTICA EM LOTES DE SEMENTES DE MILHO.** M.G.G.C. Vieira<sup>1</sup>; M.M. Lopes<sup>2</sup>; L. Padilha<sup>3</sup>; M.S. Oliveira<sup>4</sup>; E.V.R. Von Pinho<sup>5</sup> (Universidade Federal de Lavras-UFLA, CEP 37200-000, Caixa Postal 37, Lavras-MG, e-mail: <sup>1</sup>mariagcv@ufla.br, <sup>3</sup>lilian@cnpmc.embrapa.br, <sup>5</sup>edila@ufla.br).

RESUMO - No sistema de produção de sementes, a pureza genética é um dos requisitos fundamentais para a sua comercialização. Nesse sentido são estabelecidos padrões de tolerância e há necessidade de metodologias que detectem contaminação, bem como definir o tamanho de amostra a ser utilizado de forma a garantir ao produtor e ao consumidor, dentro de um determinado nível de segurança, a pureza genética do lote de sementes. O presente trabalho objetivou determinar o tamanho da amostra para a avaliação da pureza genética, de forma a proteger o consumidor e o produtor de sementes, em níveis de segurança conhecidos e predeterminados e avaliar a sensibilidade da técnica de microsatélites para discriminar híbridos de seus respectivos parentais e a sensibilidade em detectar misturas, quando presentes em pequenas proporções na amostra. Para a amostragem seqüencial sementes híbridas foram marcadas e misturadas ao lote de sementes, simulando contaminações de 0,25%; 0,5%; 1%; 2%; 4% e 6%. Posteriormente, foram tomados grupos de 40 sementes em seqüência, até no máximo 400 sementes, visando determinar a quantidade de sementes necessária para detectar as percentagens de mistura acima mencionadas. A sensibilidade da técnica de microsatélite foi avaliada misturando-se diferentes proporções de DNA dos híbridos com o de suas respectivas linhagens. A técnica de microsatélite foi eficiente em detectar pequenas proporções de DNA em mistura na amostra, bem como discriminar o híbridos dos seus respectivos parentais. No entanto, a um nível de mistura superior a 1:8 (1P1:8P2; 8P1:1P2), a sensibilidade do marcador para detectar diferentes proporções das misturas variou em função do *primer* utilizado. Quanto à amostragem seqüencial, verificou-se que para detectar níveis de mistura acima de 1% no lote de sementes, com nível de risco tanto para o produtor quanto para o consumidor de 0,05, o tamanho de amostra necessário foi inferior ao requerido pela amostra de tamanho fixo. Isto possibilitou também a redução do custo, viabilizando o uso da técnica para atestar a pureza genética de lotes de sementes de milho.

Palavras-chave: milho, amostragem, microsatélite.

Revisores: Maria Laene Moreira de Carvalho; Renato Mendes Guimarães (UFLA).

PADILHA, L.

2003