

**GMV047** - FILOGENIA DO GENE DO INIBIDOR DE PROTEINASE DOS GÊNEROS THEOBROMA E HERRANIA. SILVA, C. R. S. E FIGUEIRA, A. Centro de Energia Nuclear na Agricultura – USP; roger@cena.usp.br

A proteína inibidora de tripsina é a maior constituinte da fração albumina de sementes de *Theobroma cacao*. Sua função *in vivo* é atuar como um inibidor natural de proteases impedindo a digestão das proteínas de reserva da semente por insetos, ou funcionando como uma fonte de reserva de enxofre devido ao seu alto conteúdo de cisteína. O objetivo deste trabalho foi avaliar a filogenia do gene do inibidor de proteinase dos gêneros *Theobroma* e *Herrania*. DNA de folhas de 11 espécies de *Theobroma* e 3 de *Herrania* foi extraído e amplificado utilizando primers desenhados para amplificar o gene inibidor de tripsina de *T. cacao* (FOR 5'CTGTGCTTGACACTGATGGTG3'; REV 5'NNNTTCCAATATCGCTGC3'). A reação de amplificação continha 0,2 µM de primers; 20 ng de DNA genômico, e foi conduzida por 35 ciclos de 30s a 94°C, 40s a 40°C, e 60s a 72°C, terminando com uma extensão 7 min a 72°C. Os fragmentos obtidos foram clonados em plasmídeo pGEMT-vector (Promega) e seqüenciados. A análise de consenso das seqüências foi realizada no programa ClustalW 1.8 e o estudo da filogenia das seqüências de DNA do gene foi realizado no programa MEGA, utilizando a distância "Jukes & Cantor" e agrupamento pelo método de "Neighbor-Joining". Os fragmentos amplificados (468 bp) foram clonados e a presença de insertos foi confirmada pela digestão com a enzima *Bst*zI. Foram obtidos 1 clone contendo inserto do gene de *T. cacao*; 2 de *T. microcarpum*; 2 de *T. bicolor*; 4 de *T. grandiflorum*; 2 de *T. subincanum*; 2 de *T. obovatum*; 2 de *T. sylvestre*; 2 de *T. speciosum*; 1 de *T. angustifolium*; 3 de *T. mammosum*; 1 de *T. simiarum*; 1 de *H. albiflora*; 1 de *H. colombia* e 3 de *H. mariae*. As seqüências de nucleotídeos clonadas de espécies de *Herrania* apresentaram alta homologia (média de 90%) com o cDNA da proteína inibidora de tripsina de *T. cacao* disponível no GeneBank; *H. colombia* apresentou a maior homologia (92%), enquanto que *H. mariae* e *H. albiflora* a menor homologia (89%). As seqüências de nucleotídeos clonadas de espécies de *Theobroma* apresentaram alta homologia (média de 91%) com o cDNA da proteína inibidora de tripsina de *T. cacao*. O alinhamento múltiplo das seqüências de aminoácidos traduzidas a partir das seqüências clonadas de *Theobroma* e *Herrania* apresentaram grande similaridade entre as seqüências traduzidas. A seqüência de DNA do gene do inibidor de proteinase de *Theobroma* e *Herrania* corrobora a classificação taxonômica dos gêneros baseada em dados morfológicos e de acordo com a hipótese evolutiva das seções. Auxílio Financeiro: FAPESP, IFS, CNPq

**GMV048** - FINGERPRINTING OF MAIZE ELITE INBRED LINES USING AFLP. SOUZA, I. R. P. de; GUIMARÃES, C.

T.; PARENTONI, S. N.; SCHUELTER, A. R.; PACHECO, C. A. P.; SANTOS, M. X. dos; GAMA, E. E. G.; MEIRELLES, W. F. E PAIVA, E. EMBRAPA Milho e Sorgo, CP 151 Sete Lagoas MG 35701-970 isabel@cnpmc.embrapa.br

Maize breeding have contributed to an expressive improvement in agricultural productivity and expensive investments are required in the development of a new cultivar. Considering that elite inbred lines are highly valuable genetic resources, their properly characterization and protection are necessary in order to avoid the chance of misappropriation of them. Techniques that directly utilize DNA allow a more complete sampling of the genome with greater power of discrimination and elimination of the environment effects. Among these techniques, AFLP is one of the most employed for fingerprinting, and can be generated and scored more repeatedly in different laboratories revealing high levels of genetic variability. The objective of this work was to generate a fingerprinting profile for nineteen maize elite inbred lines, originated from the breeding program of the Maize and Sorghum Research Center-Embrapa. The genomic DNA of these inbred lines was submitted to restriction-ligation (Life Technology AFLP Kit) and to preselective and selective amplification with six AFLP primer pairs, EcoRI/MseI (PE Applied Biosystems AFLP Kits). The fragments were separated on a ABI 377 and GeneScan software was used for gel analysis and computation of allele size. The number of well defined polymorphic loci obtained per AFLP primer pair ranged from 8 to 19. AFLP data were evaluated by clusters and principal component analysis, and the results showed that the discriminatory power of AFLP technique will be very attractive for use in plant variety protection, and to evaluate the genetic diversity among the inbred lines used in a breeding program. Financial Support - PRONEX, FAPEMIG

**GMV049** - ESTABLISHMENT OF TRANSFORMATION METHODS OF TRANSGENICS HAIRY ROOTS OF MELON(CUCUMIS MELON L.). CARDOSO, P.P.; GONÇALVES, G.F.; MENEZES, A.D.M.; SANTIAGO,L.J.M. Laboratório de Biotecnologia – CBB – UENF – Campos dos Goytacazes – RJ

The fructiculture has been considered an alternative strategy to diversify the agriculture of north and northwest of Rio de Janeiro State. Because of its adaptation to environments with high temperature and low rate of pluviosity as well as its commercial value, the yellow melon fruit (*Cucumis melo* L.) Cucurbitaceae, was proposed as one the main frutiferous species to be introduce in these regions. The genetic transformation is a useful tool for the improvement of plants with agronomic purpose. Also, the *in vitro* culture of transgenic hairy roots induced by transformation with *Agrobacterium rhizogenes* has been employed as an important system to understand the symbiotic interaction