

## G.83

**USO DE MARCADORES DE RFLP NA IDENTIFICAÇÃO DE QTL<sup>(S)</sup> PARA TOLERÂNCIA AO ALUMÍNIO EM MILHO UTILIZANDO POPULAÇÕES SEGREGANTES F<sub>2</sub> E F<sub>4</sub>.** Martins P.R.; Lopes M.A.; Parentoni S.N.; Paiva E. CNPMS - EMBRAPA. Sete Lagoas MG.

O objetivo deste trabalho foi identificar regiões cromossômicas no genoma do milho relacionadas à tolerância ao alumínio (Al). A acidez provocada por altos níveis de alumínio no solo é um dos principais problemas para a produção de milho em solos de cerrado no Brasil. A estratégia utilizada neste trabalho foi empregar marcadores de RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) em duas populações segregantes constituídas de 70 plantas F<sub>2</sub> e 168 famílias F<sub>4</sub> derivadas do cruzamento entre as linhagens endogâmicas (L53) suscetível e (L1327) tolerante ao Al. O Comprimento Relativo de Raiz Seminal (CRRS) foi utilizado como índice fenotípico, sendo obtido a partir de plântulas submetidas por 7 dias à solução nutritiva contendo nível tóxico de Al. Devido a natureza quantitativa do caráter, utilizou-se a média de 42 indivíduos para representar os valores de CRRS de cada uma das 168 famílias F<sub>4</sub>. As sondas de RFLP (UMC 48, UMC103, UMC 89 e CSU 155) localizadas sobre o cromossoma 8 foram utilizadas baseando-se em estudos preliminares que sugeriam a existência neste cromossoma de regiões relacionadas à tolerância ao Al em milho. Análises individuais de regressão referentes às bandas polimórficas de RFLP de cada uma das sondas utilizadas mostraram que os marcadores CSU 155 e UMC 103 apresentaram coeficientes de regressão estatisticamente significativos para as duas populações, confirmando a existência de "Quantitative Trait Loci" (QTL) relacionado à tolerância ao Al. Análise de regressão múltipla utilizando-se os dados de RFLP dos marcadores CSU 155 e UMC 103 mostrou que somente o marcador CSU 155 manteve o coeficiente de regressão significativo. Este resultado associado com o fato de que estes dois marcadores estão separados por uma distância de 39,1 cM sugere que os mesmos estão ligados a um único QTL. O coeficiente de determinação encontrado para o marcador CSU 155 foi 14,2% e 7,8% nas populações F<sub>2</sub> e F<sub>4</sub> respectivamente, mostrando que uma parte relativamente pequena da variação fenotípica pode ser explicada pelo marcador CSU 155.

Apoio: RHAЕ - CNPq; CNPMS - EMBRAPA

## G.84

**CARACTERIZAÇÃO DE VARIEDADES COMERCIAIS DE CANA-DE-AÇÚCAR COM AFLP, UMA NOVA TÉCNICA PARA OBTENÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES.** Carlos Gonzaga de Almeida. Div. de Melhoramento - Centro de Tecnologia Copersucar-CTC, Piracicaba - SP.

E-mail: GONZAGA@AZUL.CTC.COM.BR

A técnica de AFLP; Polimorfismo Amplificado de Fragmentos de Restrição, baseia-se na amplificação seletiva com PCR; Reação em Cadeia da enzima Polimerase, de fragmentos de DNA genômico digeridos com enzimas de restrição.

O DNA de variedades de cana-de-açúcar utilizados neste estudo foi digerido com as enzimas de restrição EcoRI e MseI. Adaptadores específicos foram ligados às regiões terminais destes fragmentos, passando então a fase de amplificação empregando-se iniciadores ou Primers de PCR com nucleotídeos seletivos adicionados. Deste modo, apenas uma parte dos fragmentos gerados são reconhecidos, e somente os fragmentos que paream completamente com os primers são amplificados. As bandas de DNA polimórfico que foram amplificados são separadas em gel de poliácridamida, e visualizadas por autoradiografia.

Algumas comparações entre AFLP e as técnicas de marcadores moleculares que empregam RAPD; Polimorfismo do DNA Amplificado Randômico, e RFLP; Polimorfismo do Comprimento de Fragmentos de Restrição, serão abordadas.

## G.85

**INVESTIGATING THE SOYBEAN GENETIC BASE USING AFLP MARKERS**

M.A. Machado<sup>1</sup>, M.F. Martins<sup>1</sup>, C.S. Sedyama<sup>3</sup>, E.G. Barros<sup>1,4</sup>, M.A. Moreira<sup>1,2</sup> & X. Dellanay<sup>5</sup>

<sup>1</sup>BIOAGRO; <sup>2</sup>Dept. de Bioquímica e Biologia Molecular; <sup>3</sup>Dept. de Fitotecnia, <sup>4</sup>Dept. de Biologia Geral - Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 Viçosa, MG, Brazil. <sup>5</sup> Monsanto Company, 700 Chesterfield PKWY North, St. Louis, MO, USA, 63198.

Cultivated soybean in the United States has a narrow genetic base because few ancestors contributed for most of the breeding germplasm programs. Nevertheless, soybean has an extensive germplasm not yet explored (Dellanay et al. 1983). In order to measure how much genetic variation is still present in non adapted and wild relatives, 263 soybean accessions (31 *Glycine soja*, 10 adapted and 222 non adapted *Glycine max*) were evaluated using AFLP DNA fingerprinting. Multi-dimensional analysis shows a very small clustering of adapted *G. max* surrounded by a layer of non adapted *G. max* with *G. soja* encompassing away from the *G. max* pool. These results show that indeed cultivated soybean has a narrow genetic base if compared with the non adapted and *G. soja* lines. The genetic distance among *G. soja* lines were greater than the genetic distance among *G. max* lines and also greater than the distance between *G. soja* lines and *G. max* lines, which emphasizes that *G. max* was originated from *G. soja*. This work is a good reference for choosing lines for breeding programs in general and specially for advanced backcross QTL analysis proposed by Tanksley and Nelson, 1996.

Financial support: RHAЕ/CNPq, CNPq, PADCT/FINEP and Monsanto.

## G.86

**MAPPING QUANTITATIVE TRAIT LOCI FOR FATTY ACID CONTENT IN SOYBEAN USING AFLP MARKERS.**

M.A. Machado<sup>1</sup>, A.S. Gesteira<sup>1</sup>, N.D. Piovesan<sup>1</sup>, M.G.A. Oliveira<sup>1,2</sup>, C.S. Sedyama<sup>3</sup>, E.G. Barros<sup>1,4</sup>, M.A. Moreira<sup>1,2</sup> & X. Dellanay<sup>5</sup>

<sup>1</sup>BIOAGRO; <sup>2</sup>Dept. de Bioquímica e Biologia Molecular & <sup>3</sup>Dept. de Fitotecnia, <sup>4</sup>Dept. de Biologia Geral - Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 Viçosa, MG. Monsanto Company, 700 Chesterfield PKWY North, St. Louis, MO, USA, 63198.

Three-hundred and eighty F<sub>2</sub> soybean seeds from the cross between a low linolenic acid accession (BARC-12) and a commercial Brazilian variety (CAC-1) were analyzed for the content of five fatty acids (palmitic, stearic, oleic, linoleic, and linolenic acids) by gas chromatography using a non-destructive method. The frequency distribution of the fatty acid contents among these seeds showed a regular bell shape curve and transgressive segregation was observed for all fatty acids. Fifteen seeds from the top and bottom scores for each of the five fatty acids were selected, planted in the greenhouse, and leaf DNA was used for AFLP analysis. Thirty five primer combinations were used producing 158 dominant and 18 codominant markers. One way analysis of variance showed three markers ( $P < 0.001$ ) associated with palmitic, two markers ( $P < 0.001$ ) with stearic, one marker ( $P < 0.01$ ) with oleic, one marker ( $P < 0.001$ ) with linoleic, and four markers ( $P < 0.001$ ) with linolenic acid contents. One codominant marker explained 50% of the variation for linolenic acid content and could be a good reference for map based cloning. A recurrent inbred line population is being developed for this cross which will allow more detailed studies about the inheritance of the contents of these five fatty acids in soybean seeds.

Financial support: RHAЕ/CNPq, CNPq, PADCT/FINEP and Monsanto.