

for the AFLP-SSR mapping phase. Our goal is to sequence over 6,000 quinoa clones from our SSR-enriched library by August 2001. From those sequences we anticipate testing approximately 500 SSR marker candidates. Our overall goal is to create a AFLP-SSR quinoa genetic map should be realized by the end of 2001. Our third objective, to develop a BAC library for physical mapping and gene isolation, is nearing one step of completion. We have over 26,000 BAC clones averaging 110 kb per insert. This BAC library represents approximately a 3X (genome equivalents) library of the 980 Mb genome of quinoa. Our goal in the BAC library is to achieve a 6X library with a projected completion date of approximately October 2001.

03-030 - CARACTERIZACIÓN ISOENZIMÁTICA DE GENOTIPOS DE ALGODÓN (*Gossypium* sp). Lourdes González; Margaret Gutiérrez. Laboratorio de Biotecnología. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP). Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA). Venezuela. E-mail:GonzalezL16@Latinmail.com

La presente investigación se realizó con la finalidad de caracterizar isoenzimáticamente algodones nativos y comerciales pertenecientes al banco de germoplasma del CENIAP. La fase experimental se cumplió en dos etapas. En la primera se estandarizó y seleccionó la metodología, usando tres variedades comerciales. En la segunda etapa se caracterizaron 60 entradas de algodones nativos y comerciales. Las corridas electroforéticas se realizaron en geles de poliacrilamida (Disc-PAGE 6-12%), usando semillas embebidas por 24 h y escarificadas. Se evaluaron diez sistemas enzimáticos (MDH, GDH, IDH, LDH, LAP, ME PGI, SOD esterasas a y b). Se incluyó la información morfológica generada en investigación previa, para complementar la caracterización del banco de germoplasma. Los datos se codificaron en una matriz básica binaria y se analizaron mediante técnicas del análisis multivariado. La caracterización Isoenzimática mostró polimorfismo para MDH, IDH, PGI, SOD, esterasas a y b. En el análisis conjunto de los sistemas polimórficos se distinguieron dos grupos (once clases), en uno se ubicaron diez materiales nativos y en el otro el resto de las entradas evaluadas. Al comparar las clases formadas mediante clasificación jerárquica ascendente tanto para características morfológicas como isoenzimáticas, se encontró que los algodones nativos V00042, V00032, V00105 y los comerciales SJC1 (V00174), Stoneville 823 (V00183), se ubicaron en la misma clase. Los materiales nativos V00016, V00067, V00061, V00071, V00077, V00081, V00082, V00112 y V00118, V00123 se separaron del resto de los materiales en ambas caracterizaciones; esto permitió inferir que los mismos están muy relacionados. Los materiales nativos V00013, V00015, V00017, V00016, V00030, V00031, V00045, V00059, V00061, V00066, V00069, V00067, V00071, V00073, V00077, V00081, V00082, V00112 y V00118, V00123 se ubicaron cercano a los comerciales, lo que indica posibles nexos parentales entre ellos, debido a: introgresión por cruzamientos, o que algunos materiales comerciales, al crecer naturalmente en siembras abandonadas han perdido algunas de sus características típicas (porte bajo, ciclo corto) y hayan sido colectados como nativos. La correlación entre la matriz de similaridad morfológica e isoenzimática no fue significativa ($r=0,20$). Probablemente los sistemas enzimáticos evaluados no están correlacionados con los descriptores morfológicos previamente estudiados. Esta investigación permitió obtener información sobre la variabilidad presente en el banco de germoplasma de algodón del CENIAP e identificar genotipos similares y establecer diferencias entre ellos. Palabras claves: *Gossypium*, algodón, isoenzimas, caracterización, banco de germoplasma.

03-031 - CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y MOLECULAR DE *Fragaria chiloensis* (L.) Duch. PARA UN PROGRAMA DE MEJORAMIENTO¹. Viviana Becerra; Mario Paredes; Cecilia González; Agnes Romero; Arturo Lavín. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA CRI-Quilamapu, Chile) vbecerra@quilamapu.inia.cl

La frutilla silvestre *Fragaria chiloensis* (L.) Duch, es uno de los progenitores de la frutilla cultivada (*Fragaria x ananassa* Duch). Esta especie habita en forma natural en Chile, especialmente en la zona sur, bajo condiciones ecológicas diferentes. El INIA(Chile), mantiene un banco de germoplasma de frutilla que ha sido colectado a través de todo el país. A partir de la evaluación morfológica y agronómica de este germoplasma, se han seleccionado algunos genotipos promisorios, los cuales podrían ser usados como progenitores en un programa de mejoramiento genético de la especie. Los objetivos de esta investigación fueron: a) caracterizar estos genotipos superiores mediante isoenzimas, Amplificación de ADN Polimórfico al azar (RAPD) y la Amplificación de ADN polimórfico (AFLP), b) determinar las relaciones genéticas existentes entre ellos, y c) relacionar los resultados de este análisis con el origen geográfico y sus características agronómicas. Se analizaron 61 accesiones silvestres con los sistemas enzimáticos Fosfo-glucosa isomerasa (GPI), leucina aminopeptidasa (LAP), y fosfo-glucomutasa (PGM), 60 partidores de RAPD y 6 combinaciones de partidores *EcoRI/MseI* de AFLP. El resultado del estudio isoenzimático indicó una baja diversidad genética y sólo algunos genotipos fueron polimórficos para LAP y GPI. Esta baja diversidad fue corroborada por el bajo nivel de polimorfismo obtenido mediante RAPDs y AFLPs, técnicas moleculares que poseen una alta eficiencia en detectar variaciones genéticas entre individuos altamente emparentados. Estos marcadores moleculares no permitieron obtener patrones de identificación específicos para cada una de las accesiones analizadas. La baja diversidad genética del germoplasma analizado contrasta con una mayor variabilidad morfológica y agronómica, aspecto de gran relevancia para un programa de mejoramiento. Las relaciones genéticas establecidas entre el material analizado reveló que no existe una relación clara entre la diversidad genética y los lugares geográficos donde se realizaron las colectas. ¹ Financiamiento: Proyecto FONDECYT N° 1980166.

03-032 - PROGRAMA DE RETROCRUZAMIENTO ASISTIDO POR MARCADORES SSR PARA ACELERAR A RECUPERAÇÃO DO GENÓTIPO RECORRENTE EM MILHO. Antônio Gilson Gomes Mesquita; Claudia Teixeira Guimarães; Sidney Netto Parentoni; Edilson Paiva. Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo. Núcleo de Biologia Aplicada. E-mail: gilsonm@ufac.br.

O uso de marcadores moleculares para acelerar conversão de pais recorrentes tem se tornado uma estratégia muito importante para manter a competitividade e aumentar a eficiência dos programas de retrocruzamento. Dentre as classes de marcadores mais promissoras para tal finalidade destacam-se os microssatélites (SSR) pelo fato de serem codominantes e multialélicos. Assim, o presente trabalho foi proposto com o objetivo de avaliar a eficiência da seleção assistida por marcadores SSR em programas de retrocruzamento utilizando uma característica quantitativa de alta herdabilidade, como modelo para ser transferida para uma linhagem elite de milho de alta capacidade geral de combinação. A linhagem L13, que possui uma baixa inserção de espiga, foi utilizada com genitor doador e a linhagem L11 foi utilizada como genitor recorrente por possuir uma excelente capacidade combinatória para produção de grãos.

A partir de 523 indivíduos RC_1 foram selecionados 35 que apresentaram altura de inserção da espiga com um desvio padrão abaixo da média da população. Tais plantas foram genotipadas por meio de 27 marcadores SSR homogeneamente distribuídos no genoma de milho, sendo selecionadas cinco plantas com maior recuperação do genótipo recorrente com uma média de 82,5% de recuperação, a partir das quais foi constituída uma geração RC_2 com 241 indivíduos, que também foram submetidos às mesmas avaliações da população RC_1 . A genotipagem gráfica dos indivíduos RC_2 utilizando um total de 68 SSR, possibilitou a seleção de indivíduos RC_2 com uma média de recuperação do genótipo recorrente de 95,7%, com a identificação de progênes com até 98,43% de recuperação o que equivaleria a uma média esperada no RC_3 . A cada ciclo de seleção fenotípica houve uma redução média de 16,8% na altura da inserção da espiga, o que representou um ganho genético significativo em função da introgressão de genes de interesse do genitor doador. Adicionalmente, os dois ciclos de retrocruzamento assistido por marcadores SSR foram eficientes em selecionar indivíduos com um alto grau de recuperação do genótipo recorrente. No entanto, a capacidade combinatória das linhagens convertidas no presente trabalho será avaliada por meio de *top-cross* utilizando uma linhagem testadora de grupo heterótico diferente.

03-033 - PROSPECCIÓN DE LA IDENTIDAD GENÉTICA DE CEPAS DE VINIFICACIÓN DEL VALLE DE CASABLANCA, CHILE, MEDIANTE MARCADORES DE MICROSATÉLITES. Claudio Narvaéz, Jorge Valenzuela, Patricio Hinrichsen. INIA-Chile. Centro Experimental La Platina. Laboratorio de Biotecnología. E-mail: phinrich@platina.inia.cl

En los últimos años, se ha constatado en diversos países viticultores que en ocasiones existe confusión con la identidad de las cepas plantadas, verificándose también un grado variable de heterogeneidad genética, con dos o más cepas presentes en un mismo cuartel. Este hecho, originalmente sugerido por métodos ampelográficos (que se basa principalmente en la morfología de las hojas de la vid), puede ser confirmado con métodos moleculares, para lo cual una de las mejores herramientas actualmente disponible son los marcadores de microsátélites o SSR. El objetivo de este trabajo fue realizar una "prospección genética" del valle de Casablanca, que con sus cerca de 5.000 hectáreas de viñedos (en su mayoría, cepas blancas) representa el de mayor crecimiento en los últimos 10 años en Chile. Se caracterizaron individualmente unas 250 plantas provenientes de ocho viñedos en producción, incluyendo seis cvs. blancos y seis tintos y en algunos casos, diferentes clones de cada cepa. Estos cvs. fueron 'Chardonnay', 'Sauvignon blanc', 'Semillón', 'Riesling', 'Gewurztraminer', 'Viognier', 'Mouvedre', 'Shiraz', 'Pinot noir', 'Cabernet Sauvignon', 'Merlot' y 'Carmenère', los que fueron diferenciados con un grupo de entre cuatro y ocho marcadores de SSR usados rutinariamente para este propósito en INIA La Platina. Los resultados fueron muy variados, encontrándose tanto cuarteles correctamente indexados, como algunos con hasta tres cultivares ampelográficamente similares. En varios casos se encontró mezclas de dos diferentes genotipos en un mismo cuartel, o viñedos completos incorrectamente indexados, principalmente en el caso de Merlot, del cual más de la mitad de las 73 plantas analizadas (59%) correspondieron al cv. Carmenère. Entre las cepas blancas, de las 21 plantas de Sauvignon Blanc casi el 50% no correspondió a ninguna cepa conocida, mientras que en Chardonnay (n=52) se detectó un 31% de plantas que no coincidieron con los patrones de la cepa, aunque en este caso sólo hubo diferencias en algunos alelos. Hasta donde se sabe,

esta es la primera vez que se caracteriza a nivel molecular la población de vides de un valle específico, lo que es una primera etapa en la certificación de origen y cepa. Esta información es de gran utilidad para los viñateros, quienes pueden homogenizar sus cuarteles a partir de cepas certificadas genéticamente.

03-034 - DESARROLLO DE UN MAPA DE LIGAMIENTO GENÉTICO EN *Vitis vinifera* COMO APOYO A UN PROGRAMA DE MEJORAMIENTO GENÉTICO DE UVA DE MESA. Kattina Zavala; Carlos Aguirre; Patricio Hinrichsen. Laboratorio de Biotecnología. INIA La Platina. Santiago, Chile. E-mail: phinrich@platina.inia.cl

Un mapa de ligamiento genético basado en marcadores moleculares permite cubrir un genoma para su estudio, descomponer caracteres complejos en sus componentes mendelianos, localizar regiones genómicas que controlan caracteres de importancia, cuantificar el efecto de cada loci y canalizar esta información para ser aplicada en mejoramiento asistido. En *Vitis* se ha descrito hasta ahora un único mapa, basado principalmente en marcadores de RAPD. En este trabajo se muestra el desarrollo de un mapa de ligamiento genético para *Vitis vinifera*, basado principalmente en marcadores co-dominantes (microsatélites o SSR) y, en menor proporción, en marcadores moleculares de tipo dominante (AFLP y RAPD). El programa de mejoramiento genético de INIA La Platina (Santiago, Chile) cuenta con más de 100 cruzamientos en los cuales se han usado como progenitores los cultivares de uso mas común en Chile; de éstos, se escogió el cruzamiento Ruby Seedless * Sultanina (Thompson Seedless), que cuenta con cerca de 300 plantas en evaluación de campo. Estos progenitores contrastan, entre otras cosas, en que Ruby transmite sabor Moscatel y no requiere ácido giberélico para crecimiento de bayas. La población de mapeo está compuesta, además de ambos progenitores, por 128 segregantes, de los cuales cerca de la mitad ya fructifican. Los marcadores de microsátélites revelaron entre 10 y 20% de autopolinización en este cruzamiento, plantas que no fueron incluidas en este análisis. Hasta la fecha, se han evaluado unos 70 SSRs en los progenitores, de los cuales al menos 10 no son informativos (dobles homocigotos). Del resto, se ha caracterizado la población completa con ca. 30 marcadores de SSR; la mayoría de éstos, obtenidos de la base de datos Vitis Microsatellite Consortium (VMC), corresponden a loci de los extremos de los grupos de ligamiento recientemente determinados en UC-Davis (Dra. C.P. Meredith, comun. personal). Al mismo tiempo, se cuenta con unos 50 marcadores de AFLP y RAPD, con el propósito obtener un mapa lo mas saturado posible.

03-035 - USING MICROSATELLITE MARKERS IN CITRUS FOR GENETIC DIVERSITY AND CULTIVAR/CLONE IDENTIFICATION STUDIES. Darush Struss; Riaz Ahmed; Stephen M Southwick. Department of Pomology, One Shields Avenue, University of California, Davis, CA 95616, USA. E-mail: smsouthwick@ucdavis.edu

Breeding of citrus cultivars by conventional methods is slow because of a long generation time, nucellar embryony and high heterozygosity. Functional microsatellite markers which are co-dominant, multiallelic having high polymorphic information content can facilitate the breeding process by identification and characterization of citrus cultivars and clones. Two lambda phage libraries have been constructed from the leaves of 'Navel' orange to isolate microsatellites. 8 SSR markers were selected to identify citrus cultivar/clones. PCR amplification showed all primer pairs amplified the desired target microsatellite from genomic DNA