

resolvieron en un gel desnaturalizante de poliacrilamida al 6%. Para el revelado se empleó tinción por nitrato de plata. De un total de 36 combinaciones posibles de primers, 14 fueron efectivas para generar amplificaciones cuantificables y repetibles de fragmentos de un amplio rango de peso molecular (entre 1000 y 50 pb). El número total de fragmentos amplificados fue 631, de los cuáles 73 (12%) fueron polimórficos. Dentro de cada genotipo, los patrones fueron similares según el primer EcoRI+3. El número promedio de fragmentos amplificados por combinación efectiva de primers fue de 46. La caracterización por AFLP de los genotipos progenitores permitió seleccionar 14 combinaciones de primers que generaron un número adecuado de fragmentos polimórficos, cuantificables y repetibles. La aplicación de este análisis a las líneas recombinantes permitiría detectar asociaciones entre caracteres de interés agronómico y los marcadores de AFLP.

03-024 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS DE *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli. Bruno de Oliveira Jayme; Jefferson Luis da Silva Costa. Embrapa Arroz e Feijão. E-mail: jcosta@cnfpa.embrapa.br

Este trabalho teve como objetivo analisar a variabilidade genética de isolados de *Fusarium oxysporum* patogênicos ao feijoeiro. Foram obtidas culturas monospóricas de vinte e um isolados de *F. oxysporum* f. sp. phaseoli de diferentes regiões do Brasil, sendo o micélio produzido em meio líquido BD, após 14 dias de agitação contínua à 119 RPM. O DNA foi extraído conforme a metodologia de Roeder & Broda (Appl Microb. 1: 17 – 20, 1987). Para a amplificação do DNA genômico utilizaram-se os primers: ED13 = 5'-ATGGCCACCTCGTGG-3'; ED24 = 5'-ATGGCAACTTCGTGG-3' e ED15 = 5'-ATGGCAACCTCGTGG-3'. A análise das bandas visualizadas em gel de agarose a 1,4% gerou um dendograma utilizando o programa NTSYS. Estes marcadores moleculares revelaram três grupos distintos de isolados com coeficiente de similaridade variando de 64% a 96%. No primeiro grupo incluem-se oito isolados originados de diferentes localidades brasileiras, com similaridade genética variando de 65% a 88%. O segundo grupo continha 11 isolados, e dentro deste, sete isolados originários de uma única região, revelaram um subgrupo com coeficiente de similaridade entre 80% e 92%, indicando uma origem clonal para os mesmos. O terceiro grupo foi constituído por um representante único originário de Goiás, tendo apenas 49% de similaridade genética com os demais isolados estudados.

03-025 - RELACIÓN MOLECULAR DEL FREJOL RAZA CHILE CON OTRAS RAZAS Y POOL DE GENES¹. Mario Paredes², Viviana Becerra², Daniel Debouck³, Susan Araya², Juan C. Bustamante². ² Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA, CRI Quilamapu, Chillán, Chile. mparedes@quilamapu.inia.cl. ³ Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT. Apartado Aéreo 6713, Cali, Colombia.

El origen del frejol chileno es desconocido y aún no se han establecido sus ancestros silvestres inmediatos ni su relación con otros genotipos. La información existente clasifica al germoplasma chileno en el Pool de genes Andino. Sin embargo, la ausencia de frejoles silvestres, presencia de hallazgos arqueológicos prehispánicos, presencia de similitudes morfológicas entre la raza Chile (Andino) y la raza "Durango" (Mesoamericano) y un alto nivel de introgresión entre ambas razas indican una posición poco clara de este germoplasma. El objetivo del proyecto fue determinar el origen y el nivel de

diversidad genética del frejol chileno mediante el estudio de las relaciones moleculares (RAPD, AFLP, RFLP-PCR de ADN de mitocondria y cloroplasto) existentes entre diferentes genotipos silvestres y cultivados pertenecientes a diferentes razas y pool de genes. Durante este estudio se **Erro! Indicador não definido.** utilizaron accesiones silvestres provenientes de Argentina, Bolivia, Perú, Ecuador y México. Mientras que la Raza Chile estuvo representada por genotipos endémicos (Tórtola, Coscorrón, Suave y Manteca) y naturalizados (Cuyano, Bayo, Frutilla, Blanco y Sapito). Para el análisis de RAPD se evaluaron 40 partidores de 10 mers, en AFLP ocho combinaciones de partidores y en RFLP-PCR cuatro partidores de mitocondria y nueve de cloroplasto, en combinación con 13 enzimas de restricción. Estos análisis moleculares indicaron: a) la presencia de una escasa diversidad genética del germoplasma Chileno a nivel del ADN nuclear y organelar (cpADN y mtADN), b) una mayor relación del germoplasma Chileno con el material Andino, en relación al material Mesoamericano, sin embargo, no se pudo establecer una relación mas específica y directa con el material silvestre proveniente de Argentina, Bolivia o Perú y c) una separación genética del material silvestre Ecuatoriano del Andino y Mesoamericano, d) solo los AFLP pudieron agrupar claramente los materiales chilenos por su nivel de endemismo y clase comercial. ¹Financiamiento : Proyecto FONDECYT N° 1980164.

03-026 - EVALUATION OF RICE (*Oryza sativa* L.) GENETIC RESOURCES AND ITS CLASSIFICATION IN THE *indica/japonica* SUBSPECIES. André Beló^{1,2}, Leocir José Welter^{1,2}, Márcio Elias Ferreira¹ and Paulo Hideo Nakano Rangel³.

¹Laboratory of Genetics, EMBRAPA – Genetic Resources and Biotechnology. ²Federal University of Santa Catarina. ³EMBRAPA – Rice and Bean. andbelo@hotmail.com.

In rice (*Oryza sativa* L.) there is an extensive genetic diversity collected and conserved in germplasm banks, able to increase the genetic variability in breeding programs. However, the deficiency of information about genetic diversity limits its use. Molecular markers are tools that turn possible to obtain information, characterize the germplasm and to expand its use. The objects of this work was (1) to evaluate accesses, lines and varieties conserved in Brazilian Rice Germplasm Bank by EMBRAPA with molecular markers to produce germplasm information, increasing the efficacy of its use in breeding programs and (2) to compare different methods of *indica/japonica* subspecies classification. Hundred eight accesses of irrigated and upland rice representing the genetic basis of rice breeding in Brazil ('reference collection' – RC), including the parental lines of recurrent selection populations such as CNA-5, furthermore two accesses of *O. glumaepatula* and one of *O. rufipogon* were evaluated with both 114 RAPD markers and 13 SSR loci. The *O. sativa* accesses were classified in the subspecies *indica* or *japonica* using estimates of genetic similarity and cluster analysis based on molecular markers data, four *indica/japonica*-specific RAPD markers (SRM), crop system (irrigated or upland) and previous breeders classification based on morphological traits. The results with different methods were compared to determine its agreement in the classification. Relationship of RC accesses based on similarity levels was turned available to breeders by clustering analysis. There was the formation of two principal groups corresponding to accesses of subspecies *indica* (36 %) and *japonica* (64 %). Parental lines used to create the recurrent selection populations were distributed in the dendrogram and its sampling process could be evaluated. The SRM detected some accesses possibly derived from *indica* x *japonica* crosses (I/J), corroborating clustering

analysis. The different methods of classification were consistent between them, with the exception of the cropping system (irrigated or upland). The information obtained allowing to breeders a better chooses of accesses and lines to your crosses. The results suggest a screening with SRM to classify accesses and the use of clustering analysis for *I/J* accesses and relationship studies. Financed by PADCT/CNPq and FAP-DF.

03-027 - CORRELATION BETWEEN GENETIC DISTANCE OF PARENTS AND HETEROSIS IN RICE (*Oryza sativa* L.).

André Beló¹, Silvana Telles Cavalheiro¹, Zilneide Pedrosa Amaral¹, Márcio Elias Ferreira¹, Elcio Perpétuo Guimarães² e Paulo Hideo Nakano Rangel². ¹Laboratório de Genética, EMBRAPA – Recursos Genéticos e Biotecnologia. ²EMBRAPA – Arroz e Feijão. andbelo@hotmail.com.

Hybrid Rice is an alternative to create genotypic combinations more productive than the actual varieties. The main factors limiting the heterosis exploitation to Hybrid Rice production are the self-pollinization habit of the specie and the difficulty in to test all the possible crosses. An efficient method in the prediction of the hybrid heterosis, based on characteristics of the parental lines, could aid the genetic breeding programs to accelerate the selection of hybrids and avoid time and resources consuming. The objective of the work was to verify the existence of correlation between genetic distance of parental lines with phenotypic traits and heterosis in F_1 hybrids, to predict the potential yield of new hybrid combinations. Ninety-eight RAPD markers was used in the evaluation of four cytoplasmic-genetic male sterile lines, 45 maintainers of sterility lines and 224 restorer of fertility lines from Cytoplasmic Male Sterility (CMS) Rice Hybrid Program developed by EMBRAPA. Four *indica/japonica*-specific RAPD markers were utilized to classify the lines in the different subspecies. Pairwise genetic similarity among the genotypes was estimated by Dice coefficient and the restorer lines were classified in more similar, less similar and intermediary, in relation to the male-sterile lines. The restorer lines of the three categories of genetic similarity were crossed with the four male-sterility lines to produce 70 hybrids. These F_1 hybrids, its parental lines and four control varieties were evaluated to productive, productive compounds and agronomic traits in an experimental design with four randomized complete blocks, being these results used to estimate the heterosis for rice hybrids. Significant statistic differences were detected in some specific genotype combinations. However, the data do not allow a clear relationship between genetic distance and heterosis in this germoplasm. The results showed that this correlation occurs in specific combinations of markers with genotypes, suggesting that the formation of heterotic groups can play an important role in Hybrid Rice production, including a new difficulty to technology. Financed by PADCT/CNPq and FAP-DF.

03-028 - CARACTERIZACION MOLECULAR EN *Prosopis* (MEZQUITE) Y ANALISIS DE SU COMPORTAMIENTO IN VITRO. Abraham Rubluo; Guillermo Carrillo; Juana Juárez; Elizabeth Arriaga; Ingrid Brunner. UNAM. Laboratorio de Cultivo de Tejidos. E-mail: rubluo@ibiologia.unam.mx

INTRODUCCION. *Prosopis*, género multipropósito de zonas áridas de México no ha sido caracterizado con fines de mejoramiento, proceso lento dada su condición arborea. Estas dificultades pueden superarse más rápidamente analizando sus relaciones genéticas mediante marcadores moleculares y explorando su respuesta *in vitro* para posteriormente seleccionar y clonar individuos élite. OBJETIVOS. Sentar las bases para

una caracterización molecular de las 9 especies mexicanas de *Prosopis* para patrones de proteínas totales y ADN así como explorar condiciones para su micropropagación *in vitro*. MATERIALES Y METODOS. Para el análisis de proteínas y ADN se usaron cotiledones. Las proteínas extraídas se analizaron por el método de Lowry, se separaron en gel de acrilamida y sus bandas se registraron. El ADN se aisló por el método de Dellaporta amplificándose por PCR con 25 iniciadores. Los productos amplificados fueron separados por electroforesis y sus bandas registradas. El peso molecular de proteínas y fragmentos de ADN se calculó usando curvas estandar. Se construyeron matrices de similitud con el coeficiente de Jaccard y el método UPGMA usando el programa NTSYS. Semillas de *P. pubescens* se germinaron y diferentes explantes se cultivaron *in vitro* en medio MS adicionado de reguladores del crecimiento a varias concentraciones. Segmentos nodales de plantas adultas fueron también utilizados como explante para su cultivo *in vitro*. RESULTADOS Y CONCLUSIONES. De las bandas proteicas observadas, dos fueron comunes a todas las especies. Con RAPDS se obtuvieron 1573 bandas con un fragmento de 850 pb común a todas las especies, y otros particulares para las secciones Algarrobia y Stombocarpa. Los patrones de RAPDS mejor que los de proteínas mostraron las diferencias entre especies. Los dendogramas de relaciones genéticas dieron una fuerte correlación con la clasificación taxonómica clásica. La germinación en *P. pubescens* se logró en tratamientos con H_2SO_4 . Los explantes con mayor potencial regenerativo fueron cotiledones con hipocótilo en presencia de Kin y ANA a 0.05 y 0.1 mg/l, los cuales favorecieron la multiplicación y el porcentaje morfogénico de los brotes, estos se enraizaron en presencia de IBA y se establecieron en invernadero. Los segmentos nodales de plantas adultas no prosperaron.

03-029 - DEVELOPMENT OF A *Chenopodium quinoa* GENETIC MAP – A TEAM APPROACH. Mikel R. Stevens¹; Alejandro Bonifacio²; Brian W. Gardunia¹; Susan E. Parkinson¹; Eric N. Jellen¹; Craig E. Coleman³; Hong-Bin Zhang⁴; K. Arumuganathan⁵; Daniel J. Fairbanks³. ¹Agronomy and Horticulture Department, Brigham Young University, Provo, UT 84602; ²The Foundation for the Promotion and Investigation of Andean Products (PROINPA), La Paz, Bolivia; ³Botany and Range Science Department, Brigham Young University, Provo, UT 84602; ⁴Department of Soil and Crop Sciences, Texas A&M University, College Station, TX 77843;

⁵Center for Biotechnology, University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, NE 68588. E-mail: daniel_fairbanks@byu.edu

Of all the New World crops, *Chenopodium quinoa* Willd., commonly known as quinoa is one of the most under utilized, given its superb seed protein composition and yield potential. Its cultivation is mostly limited to the high Andean of South America, where it is principally grown as a staple crop. In an effort to increase the productivity and uses of quinoa in Bolivia, a multi-disciplinary approach has been developed to facilitate quinoa breeding in the Bolivian highlands. This project uses a three-pronged approach: first, to develop microsatellites (simple sequence repeats [SSRs]) for use in PCR-based testing; second, to develop an amplified fragment length polymorphism (AFLP)-SSR genetic map of the genome; and third, to develop a bacterial artificial chromosome (BAC) library for physical mapping and eventual gene isolation. We have already identified over 550 SSRs from over 2,600 quinoa DNA sequences of a "AG repeat" enriched cv. 'Real' DNA library. Our early testing has revealed that there are 26 SSR markers out 48 primer pairs tested that demonstrate polymorphisms among the set of ten breeding lines that we have used for parents to develop segregating populations