

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@cnpaf.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 **Erró! 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 (IJ), corroborating clustering