

Biología Molecular y Genética

Maria das Graças Rodrigues Ferreira, Carlos Henrique Siqueira de Carvalho
Embrapa Rondônia, Br
364, Km 5,5, Cx Postal
406, CEP – 78970-900,
Porto Velho, RO, Brasil
mgraca@cpafro.embrapa.br

Andréa Almeida Carneiro
Embrapa Milho e Sorgo
Cx Postal 151, CEP -
35701-970, Sete Lagoas-
MG, Brasil

Carlos Ferreira Damião Filho
UNESP/Jaboticabal, Via
de Acesso Prof. Paulo
Donato Castellane, s/n,
CEP - 14884-900,
Jaboticabal-SP, Brasil

Nilda Alcorcés
Universidad de Oriente,
Núcleo de Monagas,
Escuela de Ingeniería
Agronómica, Campus Los
Guaritos, Maturín,
Monagas, Venezuela
nildafel@cantv.net
nalcorces@monagas.udo.edu.ve

Transferência de genes em segmentos foliares de Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum.) usando biobalística

A técnica da biobalística consiste na aceleração de micropartículas que atravessam a parede celular e membrana plasmática, de forma não letal, carreando substâncias adsorvidas, como DNA, RNA ou proteínas, para o interior da célula. Segmentos foliares de cupuaçu foram bombardeados com um plasmídeo, contendo o gene reportador da antocianina, utilizando-se pressão de hélio de 650 e 1000 psi. Após o bombardeamento, os explantes foram transferidos para meio MS por 24 horas e, após este período de incubação, pontos vermelhos foram detectados utilizando-se um estereomicroscópio Stemi SV11 Zeiss (Germany). A expressão do gene da antocianina foi observada às pressões de 650 e 1000 psi, entretanto necroses foram encontradas na pressão de 1100 psi. Demonstrou-se que os genes C1 e R' da síntese de antocianina, sob o controle do promotor 35S, podem ser utilizados como repórteres para o monitoramento dos eventos de transformação. Plantas de cupuaçu transformadas podem ser incorporadas a programas de melhoramento tradicional, diminuindo o tempo e o custo na produção de novos genótipos resistentes a doenças, como a vassoura de bruxa.

Cariotipos de cinco especies del género *Tabebuia* Gomes (Bignoniaceae) en el estado Monagas, Venezuela

La familia Bignoniaceae Juss. está representada por aproximadamente 110 géneros y 650 especies, distribuidas desde el norte de México hasta el norte de Argentina; para Venezuela se reportan cerca de 21 especies y para el estado Monagas 11. El material colectado en diferentes localidades del estado Monagas corresponde a *Tabebuia capitata* (Bur. & Schum.) Sandw.; *Tabebuia chrysantha* (Jacq.) Nichols.; *Tabebuia guayacan* (Seem.) Hemsl.; *Tabebuia ochracea ssp. heterotricha* (DC.) Gentry y *Tabebuia ochracea ssp. neochrysantha* (Gentry) Gentry. El estudio cromosómico se realizó con meristema radicular; se determinaron sus números cromosómicos, la tinción se realizó con orceína FLP al 2%. Una vez determinados los números cromosómicos se corroboraron con lo reportado para las especies *Tabebuia donnel-smithii*; *T. guayacan*; *Tabebuia pallida*; *Tabebuia rosea* y *Tabebuia serratifolia* con $2n=40$. La clasificación cromosómica se realizó con lo propuesto por Levan et al (1964). Las fórmulas cariotípicas propuestas después de haber realizado las medidas a cinco células por especie y habérseles calculado la media a cada una son para: *T. capitata* 20 m; *T. chrysantha* 1M + 11m + 8sm; *T. guayacan* 5M + 15m; *T. ochracea ssp. heterotricha* 4M + 13m + 3sm; y *T. ochracea ssp. neochrysantha* 7M + 11m + 2sm.

Cristian Andrés Olaya Arias^{1, 3},
Creuci Maria Caetano²,
Geo Coppens
d'Eeckenbrugge¹,
Leticia Serna Angel³
¹CIRAD-FHLOR/IPGRI
²UNIMEO-CTESOP/CIRAD-FHLOR/IPGRI
³Universidad de Caldas-Colombia
 criola@colombia.com
 creuci@hotmail.com
 g.coppens@cgiar.org
 letisera@col2.telecom.com.co

Primer estudio de la meiosis en *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Kunth) Holm-Nielsen & Jorgensen, *Passiflora tarminiana* Coppens & Barney, *Passiflora mixta* y tres de sus híbridos

Este trabajo define una metodología para observación de cromosomas meióticos, establece las relaciones entre botón floral, antera y fases de la meiosis, y estudia el comportamiento meiótico y la viabilidad del polen en *Passiflora tripartita* var. *mollissima*, *P. tarminiana*, *P. mixta* y tres de sus híbridos. La metodología de corte longitudinal de la teca y tinción con aceto-carmin al 2 % posibilitó mejores resultados. El mayor intervalo entre los tamaños útiles de la antera se dió para el híbrido *P. tripartita* var. *mollissima* x *P. mixta* (M°C). Se registro por primera vez el número cromosómico $2n=18$ para *P. tarminiana*. Las otras especies y los híbridos presentaron igual número. Diversas irregularidades fueron observadas, como presencia de univalentes, asincronía en la migración cromosómica, asincronía de fases en meiosis II, micronúcleos, citocinesis aberrante y microcitos. También se presentan apareamientos de cromosomas de diferentes tamaños, asociaciones secundarias de los cromosomas en metafase I, diferentes posiciones relativas de los husos llevando a distintos patrones de tetradas y degeneramiento citoplasmático. Presencia de micronúcleolos en profases y telofases y eliminación citoplasmática y/o cromosómica fueron encontrados por primera vez en *Passiflora*. Las irregularidades fueron mas frecuentes en M°C, dando indicios de un menor grado de homología entre sus parentales. Las pruebas de coloración indican alta viabilidad polínica, siendo mayor en híbridos que en parentales. La falta de correspondencia entre frecuencia de irregularidades y viabilidad polínica se explica por la reintegración al núcleo de los cromosomas asincrónicos y por degeneramiento de los microsporocitos mas gravemente afectados.

Observaciones sobre el estatuto de parientes silvestre del frijol tepari, *Phaseolus acutifolius* Asa Gray

L. C. Muñoz,
M.W. Blair,
D.G. Debouck
 Centro Internacional de
 Agricultura Tropical, Apartado
 6713, Cali, Colombia
 L.Munoz@cgiar.org

El frijol tepari es una de las cinco especies de *Phaseolus* domesticadas en las Américas en tiempos precolombinos. Sus parientes silvestres, *P. acutifolius* var. *acutifolius*, *P. acutifolius* var. *tenuifolius* y *P. parvifolius* Freytag, están distribuidos en Aridoamérica y otras partes secas de América Central al NO del Lago de Nicaragua. El objetivo de este estudio era entre otros entender mejor el estatuto de estas formas silvestres con relación a la forma cultivada. Se usaron 117 genotipos de tepari conservados en CIAT, y materiales representativos de los acervos genéticos de *P. vulgaris* L. y *P. lunatus* L. (4 y 4), uno de *P. coccineus* L. y uno de *P. glabellus* Piper. Marcadores AFLPs fueron usados sobre DNA total genómico; las combinaciones de enzimas de restricción y cebadores E-AAG y M-CTT dieron los mejores polimorfismos. Las similitudes genéticas fueron determinadas con el coeficiente Dice usando los programas de SAS y NTSYS 2.02. *P. lunatus* resultó ser la especie más distante, seguido por *P. glabellus* y *P. coccineus* (no relacionados). *P. vulgaris* estuvo cerca del grupo *P. acutifolius* y *P. parvifolius*. Los tepari cultivados presentaron poco polimorfismo, agrupandose en un solo grupo. Los *P. acutifolius* silvestres formaron dos grupos, y *P. parvifolius* un grupo aparte. El nivel de separación de *P. parvifolius* en relación a los demás *P. acutifolius* silvestres es inferior al nivel de separación de los acervos genéticos dentro de *P. lunatus* y *P. vulgaris*, indicando que *P. parvifolius* merece posiblemente el rango de variedad válida dentro de *P. acutifolius*.

Polimorfismos del ADN del cloroplasto y la domesticación del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)

**María I. Chacón S.,
Barbara Pickersgill**
Department of Agricultural
Botany, School of Plant
Sciences, The University
of Reading, Whiteknights,
PO Box 221, Reading,
RG6 6AS, Reino Unido.

Daniel G. Debouck
Unidad de Recursos
Genéticos, Centro
Internacional de
Agricultura Tropical
(CIAT), Apartado 6713,
Cali, Colombia.

P. vulgaris silvestre se distribuye tanto en Mesoamérica como en los Andes. Esta especie fue domesticada por lo menos una vez en cada región pero aún no es claro si la existencia de múltiples razas cultivadas en cada área se debe a una o varias domesticaciones. En esta investigación, el ADN del cloroplasto se escogió para estudiar patrones de domesticación en esta especie por dos razones: primero, esta molécula presenta variación intra-específica, y segundo, es heredada maternalmente y no experimenta recombinación por lo cual los resultados son fáciles de interpretar. Una muestra de 158 entradas de germoplasma silvestre de la Colección Núcleo de Frijol Común Silvestre y 165 entradas de germoplasma cultivado, consistente de variedades criollas provenientes de áreas tradicionales de cultivo en América Latina, fue obtenida del CIAT. Un total de 16 haplotipos de cloroplasto (A-P) fue observado en los frijoles silvestres. Los frijoles cultivados sólo presentaron 4 de estos haplotipos (C, I, K y L), presumiblemente como resultado del efecto fundador de la domesticación. Los resultados sugieren múltiples eventos de domesticación en Mesoamérica: uno en Oaxaca (México) para las razas Mesoamérica y Durango, ambas con haplotipo K, uno en Jalisco (México) para la raza Jalisco con haplotipo L, y otro en el área Chiapas (México)-Guatemala para la raza Guatemala con haplotipo I. Los resultados sugieren que las razas andinas, todas con haplotipo C, provienen del sur del Perú y que su diferenciación se debe a difusión hacia otras regiones en los Andes bajo presiones ecológicas y humanas variables.

Flujo génico entre dos especies Mesoamericanas de *Viola* (Violaceae)

**Aurea C. Cortés
Palomec,
Harvey Ballard**
Department of
Environmental and Plant
Biology, Porter Hall 317,
Ohio University, Athens,
Ohio. 45701. USA.
ac399295@ohiou.edu

La familia Violaceae está formada por proxímadamente 25 géneros y 900 especies de amplia distribución, siendo el género *Viola* el más importante con 600 especies. *Viola hookeriana* y *V. grahamii*, dos especies mesoamericanas dentro de la subsección *Mexicanae* del género *Viola*, crecen de manera simpátrica en las montañas que rodean al lago de Pátzcuaro en Michoacán, México. En esta región, individuos con características morfológicas intermedias habían sido descritos con anterioridad sugiriendo la posibilidad de hibridización e incluso introgresión entre las dos especies. El presente estudio utilizó evidencia morfológica, ecológica y molecular mediante el uso de ISSRs (inter-simple sequence repeat markers) para probar dicha teoría. Los resultados sugieren que la ausencia de aislamiento espacial y ecológico y periodos de floración superpuestos favorecieron hibridización entre estas especies. Los números poblacionales de los híbridos son tan altos como los de *V. grahamii* y mucho mayores que los de *V. hookeriana*, siendo más similares en morfología, ecología y fenología a *V. grahamii*. El proceso inicial de hibridización seguido de introgresión entre los híbridos y sus especies parentales podría haber ocurrido en el pasado. La ausencia de polinizadores en flores casmógamas y los altos niveles de cleistogamia observados sugieren que la gran cantidad de alelos específicos encontrados en los híbridos son el resultado de segregación y recombinación de los genotipos parentales en flores cleistógamas. La contribución de cada tipo de semilla que es producida por cada tipo floral aun se desconoce y se debe evaluar para ver su efecto en este complejo híbrido.

Evaluación cromosómica y molecular en especies Austroamericanas del complejo genérico *Galactia-Camptosema-Collaea* (Diocleinae-Phaseoleae-Papilionoideae-Fabaceae)

**Silvana M. Sede,
Daniela Tosto,
Lidia Poggio,**
Facultad de Ciencias
Exactas, Físicas y Naturales,
UBA, Buenos Aires,
Argentina
Consejo Nacional de
Investigaciones Científicas
y Técnicas CONICET
silvanasede@hotmail.com
dtosto@cicv.inta.gov.ar
poggiocitoevol@hotmail.com

Renée H. Fortunato
Consejo Nacional de
Investigaciones Científicas
y Técnicas (CONICET)
CONICET en el Instituto
de Recursos Biológicos,
INTA, 1712 Castelar, y
Universidad de Morón,
Prov. de Buenos Aires,
Argentina
rfortun@cirn.inta.gov.ar

En Sudamérica en género *Galactia* P. Brown (pantropical y subpantropical) fue subdividido por el hábito y caracteres florales en 3 secciones: *Odonia* (Bertol.) Burkart, *Collaearia* (Benth.) Burkart y *Galactia* (Burkart, 1971), no obstante sus representantes tienen aspectos morfológicos que comparten con especies de *Camptosema* Hook. et Arn. y *Collaea* DC. (neotropicales), siendo considerado en la Subtribu *Diocleinae* Benth. polifilético. Con el objetivo de clarificar las relaciones dentro de este complejo genérico, se está realizando un análisis a nivel cromosómico y molecular de representantes de los distintos grupos taxonómicos: 1) *Galactia*: *G. dubia* DC., *G. fiebrigiana* Burkart, *G. latisiliqua* Desv., *G. texana* (Scheele) A. Gray y *G. striata* (Jacq.) Urb., *G. benthamiana* Micheli, *G. boavista* (Vell.) Burkart, *G. marginalis* Benth. 2) *Camptosema*: *C. praeandinum* Burkart, *C. rubicundum* Hook. et Arn. 3) *Collaea*: y *C. stenophylla* (Hook. et Arn.) Benth. *C. argentina* Griseb. El número cromosómico de las especies estudiadas coincide con los propuestos para la subtribu *Diocleinae* ($2n=20$ para los géneros *Galactia* y *Collaea* y $2n=22$ para el género *Camptosema*) con la excepción de *C. praeandinum* que presenta $2n=20$. El número de regiones ADN_r analizadas a través de técnicas de hibridación in situ (FISH) usando la sonda pTa71 varía entre 4 y 6 según las especies. Asimismo se evaluaron las secuencias del espaciador transcrito interno del ADN_r (ITS) y del espaciador trnL-trnF e intrón trnL del ADN de cloroplasto incluyendo como grupos externos a representantes de los géneros *Clitoria* L. (*Clitoriinae* Benth.) y *Rhynchosia* Lour (*Cajaninae* Benth.).

Utilidad de los marcadores RAPD para evaluar clones de banano que difieren en su susceptibilidad al Mal de Panamá

**María del Carmen
Vidal,
Iselen Trujillo**
Universidad Nacional
Experimental "Simón
Rodríguez", Instituto de
Investigaciones Científicas
y Tecnológicas (IDECYT),
Laboratorio de
Biotecnología Agrícola.
Apartado Postal 47925,
Caracas, Venezuela
dsotelo@cantv.net

El banano constituye la principal fuente de carbohidratos para aproximadamente 100 millones de personas en una amplia distribución mundial. Sin embargo, existen serios problemas que limitan su producción eficiente, ya que son susceptibles a un amplio rango de patógenos de plantas, incluyendo hongos, bacterias, virus y nemátodos. El Mal de Panamá es considerada una de las enfermedades fungosas más serias que afectan al banano en las regiones tropicales de América. En esta investigación se probó la sensibilidad de la técnica RAPD para detectar el polimorfismo entre diez clones de banano que difieren en su susceptibilidad al Mal de Panamá. Se probaron 20 iniciadores en las diez muestras de ADN. Los productos de amplificación generados con algunos de los iniciadores probados, permitieron diferenciar genéticamente los clones de banano seleccionados, con lo que se concluye que los marcadores RAPD son una herramienta útil para evaluar la variabilidad genética de *Musa* y distinguir entre los genotipos de banano seleccionados.

El genero *Phaseolus*: Una fuente de gran importancia en la búsqueda de inhibidores de α -amilasa de insectos

Arnubio Valencia Jiménez

Depto de Química, Universidad de Caldas, Calle 65 # 26-10, Manizales, Colombia.
arnubio@laciudad.com

Gustavo Adolfo Ossa Ossa

Disciplina de Entomología, Cenicafé, Chinchina, Plan Alto, Colombia.
pegusta@hotmail.com

Un buen número de especies pertenecientes al genero *Phaseolus* expresan en sus semillas un tipo especial de proteínas, las cuales evidencian una fuerte actividad inhibitoria contra amilasas asociadas al tracto digestivo de algunos insectos. Esta condición hace que este genero se constituya en una fuente muy importante en la búsqueda de resistencia contra el ataque de insectos plaga. El objetivo de este trabajo fue explorar la presencia y actividad de proteínas inhibitoras de α -amilasa de insectos, en semillas fisiológicamente maduras de *Phaseolus vulgaris* y *Phaseolus coccineus*. La detección de las diferentes isoformas de los inhibidores, se llevo a cabo mediante PAGE, bajo condiciones nativas y empleando geles de PhastSystem. Los resultados muestran que existe una notable diferencia en cuanto al número y actividad biológica de los inhibidores encontrados en las especies evaluadas. Las semillas de *Phaseolus coccineus* presentan un mayor número de isoinhibidores que las de *Phaseolus vulgaris*. Esta diferencia en los patrones electroforeticos de las bandas de inhibición sugiere que esta característica podría ser útil no solo para entender la geodistribución y relaciones filogenéticas de las especies de *Phaseolus*, pero también para implementar un programa de mejoramiento genético de plantas por resistencia a insectos.

Aislamiento y caracterización genética de las poblaciones de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary en las zonas productoras de papa (*Solanum tuberosum* L.) en el departamento de Nariño

Luz Estela Lagos

Departamento de Biología, Universidad de Nariño, Torobajo, Pasto
luzestela@udenar.edu.co

Luis Fernando Campuzano

Centro de Investigación Obonuco Corpoica Pasto

Se estimó la naturaleza de 60 aislamientos de *Phytophthora infestans* en Nariño mediante la determinación del tipo de apareamiento (A1 y A2), grado de sensibilidad a dos fungicidas y la evaluación del genoma mitocondrial. Todos los aislamientos mostraron tipo de apareamiento A1, se observó toda clase de respuestas frente a los fungicidas probados pero la mayoría de ellos (48/63) y (53/64) mostraron sensibilidad a Metalaxyl y Cymoxanil respectivamente. La razón de verosimilitud se hizo mediante una prueba de Chi cuadrado y solo se encontro una relación con alta significancia para la variable municipio/metalaxyl. Se identificó el haplotipo mitocondrial IIa que corresponde al linaje clonal EC1 para todos los aislamientos procedentes de su hospedero *Solanum tuberosum*. En el análisis fué incluido un aislamiento de tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) que corresponde al haplotipo Ib y por lo tanto tendría el genotipo US1. En Colombia no existen registros de colecciones ni de caracterización genotípica de *Phytophthora infestans* para antes de 1996, por tanto no se puede concluir definitivamente el reemplazo de un linaje clonal por otro; pero los estudios en todo el mundo muestran que la sustitución puede darse por mutación o migración (Goodwin *et al.*, 1997). Considerando la posición geográfica del departamento de Nariño y el flujo constante de biodiversidad desde y hacia el norte de Colombia y Ecuador, el establecimiento de un nuevo genotipo (EC1) es evidente.

**Martha Dávila
Hernán Laurentín**
Universidad
Centroccidental "Lisandro
Alvarado", Decanato de
Agronomía, Departamen-
to de Ciencias Biológicas
martha@sihca.zzn.com
helauren@yahoo.com

Miguel A. Castillo
Universidad
Centroccidental "Lisandro
Alvarado", Decanato de
Medicina, Departamento
de Cs. Morfológicas. Apar-
tado 400. Barquisimeto,
Estado Lara, Venezuela
castillodavila@cantv.net

Paul Maduell
Unidad de Biotecnología
y Control Biológico, Cor-
poración para Investiga-
ciones Biológicas, CIB.
Carrera 72A No. 78B-141,
Medellín, Colombia.
pmaduell@epm.net.co

Ricardo Callejas
Instituto de Biología,
Universidad de Antioquia.
Apartado 1226. Medellín.
Colombia.
callejas@matematicas.udea.edu.co

Sergio Orduz
Unidad de Biotecnología
y Control Biológico. CIB
sorduz@epm.net.co

Marcadores RAPD posiblemente relacionados con la resistencia a moscas blancas en ajonjolí (*Sesamum indicum* L.).

La especie *Sesamum indicum* L. tiene una gran importancia como fuente de alimento, principalmente proteínas de calidad y ácidos grasos para la alimentación humana en todo el mundo. Los intentos por mejorar genéticamente esta especie se han visto entorpecidos por la falta de conocimientos acerca de su constitución genética así como de la aplicación de técnicas modernas para el mejor aprovechamiento de los programas de mejoramiento. El objetivo de este estudio fue establecer un protocolo de extracción de ADN para esta especie y utilizarlo en el método de RAPD para la identificación de marcadores moleculares posiblemente relacionados a la resistencia a moscas blancas en seis genotipos del cultivo. Los genotipos utilizados fueron 19X10, 43X32, 37-1, 37-3, FONUCLA y UCV-2 obtenidos en los programas de mejoramiento de las Universidades Centroccidental Lisandro Alvarado y Central de Venezuela, de procedencia conocida y evaluados previamente para la resistencia a moscas blancas. Se obtuvieron los perfiles de amplificación con una gran presencia de polimorfismos entre los materiales estudiados. Basados en el coeficiente de similitud de Jaccard se construyó un fenograma utilizando el método de UPGMA. Con este análisis se agruparon los genotipos de ajonjolí estudiados. La utilidad del método empleado con relación a la síntesis de compuestos secundarios y la resistencia a moscas blancas es discutido en este trabajo.

Distribución y caracterización de *Bacillus thuringiensis* en el filoplano de especies de *Piper* (Piperaceae) en tres niveles altitudinales

Bacillus thuringiensis prospera en forma natural en el filoplano de *Piper* (Piperaceae). Se estudiaron 35 muestras de 13 especies del género *Piper*, colectadas en tres niveles altitudinales, 1800-2900 m, sobre la cordillera central en el NO de Colombia. 256 aislados de *B. thuringiensis* fueron obtenidos del 74% de las muestras. El índice de *B. thuringiensis* (numero de aislados de *B.t*/número de aislados de bacilli esporulados) fue 0.2. Los aislados fueron caracterizados mediante cristalografía, presencia de genes *cry* (PCR) y toxicidad contra insectos. 55% de los aislados presentaron cristales bipiramidales, y 42% cristales esféricos. 70% amplificaron genes *cry1* (generalmente tóxicos para lepidópteros), 41.4% amplificaron genes *cry4* y/o *cry11* (generalmente tóxicos para dípteros), ninguno amplificó genes *cry3* (tóxicos para coleopteros). Los genotipos más abundantes de los genes *cry* (54.75 del total) fueron *cry1Aa*, *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry1Ad* y *cry1B*. Del total 7.8% presentaron genes *cry1* y *cry11*, y 2.0% contenían genes *cry1*, *cry4* y *cry11*. Todos estos aislados fueron tóxicos para *Culex quinquefasciatus* (Diptera) pero no *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera). Hasta el presente estos genotipos nunca antes habían sido reportados. En general, casi 60% de los aislados fueron tóxicos para *S. frugiperda*, y un poco más del 40% tóxicos a *C. quinquefasciatus*. Las poblaciones de células vegetativas viables y esporas por unidad de área, fueron estimadas estadísticamente. No se encontraron diferencias significativas en el número de aislados de *B.t* por cm² de área foliar entre los tres niveles altitudinales, ni entre las diferentes especies de *Piper* muestreadas.

Análisis molecular de la biodiversidad del germoplasma de *Guadua* presente en Colombia

Marta Leonor Marulanda,
Pilar Márquez
Laboratorio de
Biotecnología vegetal.
Universidad Tecnológica
de Pereira

Ximena Londoño
Sociedad Colombiana de
Bambú
ubioteve@utp.edu.co

En el presente trabajo se utilizaron los marcadores moleculares AFLP'S, para determinar las relaciones genéticas entre accesiones y biotipos de *Guadua angustifolia* y se compararon con otras especies presentes en Colombia. Se seleccionaron tres combinaciones de cebadores por la eficiencia de la amplificación y el número de polimorfismos. Se estudiaron 55 individuos del banco de germoplasma del INCIVA en Tulúa, Valle, se obtuvieron 162 bandas que representaron el 70% del polimorfismo. Para el análisis de los resultados se utilizó el método de agrupamiento UPGMA mediante el paquete estadístico NTSys – pc versión 2021 y un análisis de componentes principales. Con el análisis de conglomerados basado en los estimados de distancia genética por polimorfismo molecular se obtuvieron 2 primeros grupos de individuos (G1 y G2) que corresponden a dos fondos de diversidad de *G angustifolia* y el grupo G2 donde se agrupan *Guadua amplexifolia* y *Guadua* spp. Cinco accesiones presentaron mayores distancias genéticas y no se agruparon en el análisis: *G angustifolia* 366, 1003, *Aff G glomerata*, *G superba* (542). El análisis permitió diferenciar entre las especies utilizadas en el estudio, se encontró una alta diversidad molecular entre las especies estudiadas del género *Guadua*, una alta diversidad dentro de las accesiones de la especie *G amplexifolia*, contrastante con una diversidad relativamente menor entre accesiones de la especie *G angustifolia* de mayor representación en este estudio.

Caracterización molecular de tres genes en plantas de Calas (*Zantedeschia* sp.)

Luis Destefano-Beltrán¹,
Pamela Leal¹,
Jorge Gallardo¹,
Emilio Guerra²,
Ana Gutierrez¹
Manuel Gidekel^{1,2},
mgidekel@ufro.cl
¹Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. Dpto. de Producción Agropecuaria. Instituto de Agroindustria. Laboratorio de Fisiología y Biología Molecular Vegetal. Universidad de La Frontera. Temuco. Chile,
²Vitrogen S.A. Temuco. Chile.

A pesar de que varios cultivares del género *Zantedeschia* sp. son productos importantes de la floricultura internacional, se conoce muy poco acerca de su biología y fisiología a nivel molecular. Cualquier programa de mejoramiento, clásico o a través de ingeniería genética, de calas requerirá tener un conocimiento mayor del metabolismo y de la expresión diferencial de genes, durante la dormancia y crecimiento activo de la planta. Las calas son plantas monocotiledóneas perennes, herbáceas, de fotoperíodo neutro y dormante durante el invierno. Con el propósito de estudiar la expresión tejido-específica en *Zantedeschia* sp. se aislaron numerosos fragmentos de cDNAs parciales, mediante la técnica del "mRNA Differential Display", a partir del RNA total de distintos tejidos de la planta (tubérculo, hoja y brote). A partir de estos fragmentos, se han clonado varios cDNA completos y su expresión diferencial ha sido analizada mediante análisis Northern blot y/o RT-PCR. Los análisis de las secuencias completas de algunos de ellos han permitido la identificación de tres genes novedosos con homología a genes descritos previamente en la literatura. La expresión de los genes *T2.3*, *T2.10* y *H11* muestra patrones de expresión tejido-específica que en algunos casos parece variar con los diferentes estadios del desarrollo. La caracterización molecular de estos tres genes será un punto de partida valioso para estudios posteriores relacionados con la organogénesis en esta especie.

Financiamiento: Diufro 20202/0203, Vitrogen, S.A., Mece-Sup Fro-0002. Fundacion Andes C-13640-10

Genética molecular de la aclimatación al frío en *Deschampsia antarctica* Desv.

Marely Cuba,
Manuel Gidekel,
Patricia García,
Luis Destéfano-Beltrán,
Ana Gutiérrez-Moraga

Depto. de Producción
 Agropecuaria, Instituto de
 Agroindustria, Laboratorio
 de Fisiología y Biología
 Molecular Vegetal, Uni-
 versidad de La Frontera,
 Temuco, Chile.
mcuba@ufro.cl
hgutier@ufro.cl

León Bravo

Luis Corcuera
 Dpto. Botánica, Universi-
 dad de Concepción.

Miren Alberdi

Instituto de Botánica,
 Universidad Austral de
 Chile.

Las plantas tolerantes al frío requieren un período de crecimiento a bajas temperaturas para expresar los genes necesarios que le permitan sobrevivir al invierno. Los análisis moleculares han demostrado una expresión diferencial de genes y síntesis de *nov* de proteínas durante la aclimatación al frío en varias especies. *D. antarctica* Desv. es la única gramínea que ha colonizado en forma natural la Antártida Marítima, sobreviviendo en condiciones de congelamiento extremo, por consiguiente es una fuente potencial importante de genes asociados con la tolerancia al congelamiento. Para identificar aquellos genes y sus productos, *D. antarctica* fue sometida a condiciones de aclimatación (4°C, 18h de fotoperíodo, 180 mmol m⁻²s⁻²) por diferentes períodos, para lo cual se usó la técnica "mRNA Differential Display". Los análisis de expresión por "Northern blot" han revelado que al menos dos transcritos son inducidos fuertemente durante la aclimatación al frío, mostrando un nivel basal de inducción frente a otros tratamientos asociados con deshidratación (Salino, osmótico y ABA). A la fecha, se han obtenido los cDNAs completos de dos genes mediante RACE 5', D06 y B1, cuyos análisis de secuencia muestran una alta homología con una proteína tioltransferasa, glutarredoxina (80%) y poliubiquitina (95%), respectivamente. Se obtuvo la región promotora mediante "Universal Genome Walker", identificando elementos potencialmente funcionales en la regulación de los genes involucrados en este tipo de estrés.

Estudio de la diversidad genética en variedades nativas de *Solanum tuberosum* L. ssp. *andigena* mediante la utilización de microsatélites

Verónica N. Ispizúa,
Andrea M. Clausen,
Rosana Guma,
Sergio Feingold
 Unidad Integrada Facul-
 tad de Ciencias Agrarias,
 UNMdP-EEA Balcarce,
 INTA., C.C 276, (7620)
 Balcarce, Buenos Aires,
 Argentina
vispizua@balcarce.inta.gov.ar
aclausen@balcarce.inta.gov.ar
rosanaguma@yahoo.com.ar
sfeingold@balcarce.inta.gov.ar

Solanum tuberosum L. ssp. *andigena* (adg) (2n=2x=48), se cultiva en los Andes de América del Sur desde Venezuela hasta el noroeste de Argentina principalmente en las provincias de Salta, Jujuy y Catamarca. Esta especie presenta variedades que se diferencian entre sí por el porte de la planta, el color de las flores y, principalmente, por las características de los tubérculos. En el estudio de la diversidad genética en variedades de adg del noroeste argentino, conservadas *ex situ* en el Banco de Germoplasma de Papa de la EEA de Balcarce (INTA), se analizaron 159 clones de adg de 29 variedades, un clon de *Solanum curtilobum* Juz. et Buk (2n=5x=60), y ocho clones pertenecientes a variedades de *Solanum tuberosum* L. ssp. *tuberosum* utilizados como grupos taxonómicamente relacionados. Se realizó la extracción de ADN total de cada clon, y se amplificaron regiones genómicas conteniendo cuatro microsatélites. Para cada marcador y para cada clon se registró la presencia y ausencia de bandas, y se efectuó un análisis de coordenadas principales mediante el programa NTSYS. Los resultados obtenidos indican que la mayoría de las variedades locales están compuestas por más de un genotipo. Se presenta un análisis de la diversidad genética encontrada en función de la distribución geográfica de los clones, de las prácticas de cultivo, y del manejo e intercambio que realizan los agricultores andinos.

Análisis de la expresión del gene *apetala 2* durante el desarrollo floral de cempaxúchil (*Tagetes erecta*)

Andrés Cruz-Hernández,
Alejandra Chacón-López,
Alma Angélica del Villar-Martínez,
Octavio Paredes-López
 Departamento de Biotecnología y Bioquímica. CINVESTAV-IPN., Unidad Irapuato, Apdo Postal 629, Irapuato, Gto., México
acruz@ira.cinvestav.mx

Entre los genes que participan en la evocación y desarrollo de estructuras florales se ubica al gen *apetala 2*, que codifica para un factor transcripcional asociado con funciones importantes como la determinación del meristemo floral, la identidad floral, la regulación de genes homeóticos y es también requerido durante el desarrollo de la semilla. Los factores de transcripción codificados por el gen *apetala2* representan una familia de proteínas reguladoras de plantas las cuales se caracterizan por presentar un motivo de 68 aminoácidos de unión a ADN (dominio Ap2). Conocer los mecanismos por los cuales se activan estos factores de transcripción para dar inicio al proceso de floración en cempaxúchil, puede contribuir de manera importante en el incremento de la producción de flores por hectárea de este cultivo mediante la aplicación de técnicas de biología molecular. El objetivo de este trabajo fue aislar el cDNA que codifica para el gen *apetala2* con la finalidad de estudiar los factores que condicionan su expresión. Se analizaron 200 000 placas de fagos recombinantes por hibridación *in situ* con la secuencia EST 8IA8T7 de *apetala2* donada por el ABRC (Ohio State University, EE.UU). Los fragmentos de las clonas, que resultaron ser la misma secuencia, mostraron un tamaño de 1389 pb y una alta homología con las secuencias de los diferentes *apetala2* reportados. El análisis de expresión de mensajero muestra una alta expresión en el RNA de hojas y de flores en estadios tempranos de desarrollo, en estadios tardíos no se observa la señal del mensajero.

Estrutura genética de populações naturais de *Cryptocarya moschata* Nees & Martius ex Nees (Lauraceae) na Mata Atlântica do sudeste Brasileiro

Pedro Luís Rodrigues de Moraes,
Maria Teresa Vitral de Carvalho Derbyshire
 Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP), Laboratório de Melhoramento de Plantas, C.P. 96, 13400-970, Piracicaba, São Paulo, Brazil
plmoraes@cena.usp.br

Pela análise de 40 locos isoenzimáticos polimórficos, estimaram-se as frequências alélicas para 335 indivíduos adultos de 11 populações naturais de *Cryptocarya moschata*, de duas regiões do estado de São Paulo e da Serra da Estrela, no Rio de Janeiro. Obtiveram-se estimativas das estatísticas F de Wright, estimadas pelo método da análise da variância, que apresentaram valores de $F_{IT} = 0,352$, $F_{ST} = 0,285$ e $F_{IS} = 0,097$, indicando que os indivíduos dentro das populações devem ser panmíticos, que a diversidade entre as mesmas é bastante alta, superior à esperada para famílias com estruturação de irmãos-completos, havendo grande homogeneidade e dentro de cada população e cruzamentos entre aparentados. Calculando F_{ST} com as populações tomadas duas a duas, testou-se o modelo de isolamento pela distância, sendo que os dados não aderiram ao modelo, mostrando não haver aumento de F_{ST} com o respectivo aumento da distância geográfica. O fluxo gênico estimado em 0,55 indivíduos por geração corrobora com a pronunciada diferenciação populacional encontrada. Sob um contexto metapopulacional, o tamanho efetivo populacional foi de 17,07 indivíduos, indicando que a amostragem realizada para a espécie correspondeu a 88,44% do tamanho efetivo máximo obtido a partir de 11 populações com um F_{ST} de 0,285, correspondendo a apenas 5,09% dos indivíduos amostrados. As estratégias de manejo e conservação necessárias para a preservação da alta variabilidade genética intrapopulacional de *C. moschata* implicam na manutenção de populações com número grande de indivíduos. Além disso, para a preservação da espécie como um todo, a manutenção de muitas populações se faz necessária.

**Claudia Stange,
Nicole Ehrenfeld,
Paola Cañón,
Consuelo Medina,
Patricio Arce-Johnson**
Departamento de
Genética Molecular y
Microbiología, Facultad
de Ciencias Biológicas, P.
Universidad Católica de
Chile, Casilla 114-D, San-
tiago, Chile

Inducción de respuesta de hipersensibilidad en tabacos susceptibles a infección viral

Las plantas resistentes a patógenos son capaces de reconocerlos y desarrollar una respuesta activa llamada reacción de hipersensibilidad (HR). Esta es un proceso complejo que incluye inducción de genes de defensa, engrosamiento de la pared celular, síntesis de metabolitos secundarios y de proteínas relacionadas con patogénesis (PR). Esta respuesta lleva a la formación de lesiones necróticas locales que restringen al patógeno al sitio de infección. En plantas de tabaco resistentes, el Virus del Mosaico del Tabaco silvestre (TMV-U1) induce HR en la hoja inicialmente infectada y mosaico en las plantas sensibles. Nosotros estamos estudiando la sintomatología que induce la cepa que infecta crucíferas, llamada TMV-Cg. Esta cepa también produce HR en plantas resistentes, en cambio en plantas sensibles induce necrosis sistémica y lesiones en el sitio de infección. Hemos caracterizado la aparición de lesiones locales en tabacos sensibles ante la infección con TMV-Cg, encontrando inducción de transcritos de PR y de Glutatión S-Transferasa, los que son propios de HR. Estas lesiones desarrolladas en plantas sensibles circunscriben una zona de muerte celular rodeada de callosa, siendo histológicamente similares a las lesiones de plantas resistentes. Dados estos resultados, proponemos que se trata de una respuesta "tipo HR" en plantas sensibles, en que la planta establece una respuesta de defensa pero insuficiente para restringir el avance del patógeno. Además, hemos construido virus híbridos entre TMV-U1 y TMV-Cg, encontrando que la proteína de cubierta de TMV-Cg participa en la inducción de esta respuesta en la planta.

**Ricardo Reyes Chilpa,
E. Estrada-Muñiz,
M. Huerta Reyes**
Instituto de Química,
Universidad Nacional
Autónoma de México,
Ciudad Universitaria,
Coyoacán, 04510 México
D.F.
chilpa@servidor.unam.mx

Lucio Lozada
Facultad de Ciencias,
Universidad Nacional
Autónoma de México,
Ciudad Universitaria
Coyoacán, 04510 México
D.F.

Búsqueda de productos naturales con actividad antiviral (VIH-1) en la flora mexicana (Clusiaceae)

La enzima transcriptasa reversa (TR) juega un papel fundamental en la multiplicación del virus causante del síndrome de inmunodeficiencia humana (VIH). Aunque se dispone de fármacos sintéticos inhibidores de la TR, la alta tasa de mutación del VIH ocasiona un rápido desarrollo de resistencia a dichas drogas. Por esta razón existe una continua necesidad de buscar nuevos inhibidores ya sean sintéticos o naturales. A la fecha se han descrito en todo el mundo cerca de 60 productos naturales capaces de inhibir *in vitro* la replicación del VIH y en especial la actividad de la TR. Uno de estos compuestos, el (+)-calanólido, aislado de especies asiáticas de *Calophyllum* (Clusiaceae), actualmente se encuentra en estudios de fase clínica II. En el presente trabajo presentamos resultados de nuestro proyecto bioprospectivo tendiente a identificar nuevos inhibidores de TR de especies de Clusiaceae distribuidas en México. Una de las especies más interesantes es un árbol con amplia distribución en Latinoamérica: *Calophyllum brasiliense* Cambess. En el caso de México, hemos detectado dos poblaciones que difieren en sus constituyentes químicos (hojas): cromanonas vs. cumarinas. Varias cis-cromanonas mostraron alta actividad inhibitoria de la TR *in vitro*. Esta es la primera vez que se describe dicha propiedad para este tipo de compuestos. La existencia de diferencias químicas en poblaciones de la ¿misma? especie es interesante no solo desde el punto de vista farmacológico, sino por sus implicaciones taxonómicas, biogenéticas, ecofisiológicas y evolutivas.

Mecanismos de señalización y defensa inducidos en tomate frente al ataque del hongo *Alternaria solani*

Ernestina Solórzano
Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria, San José de las Lajas. La Habana, Cuba
esolorza@censa.edu.co

Alejandro Blanco, Elizabeth Mendiola
CINVESTAV, Irapuato, México

María del Pilar Rodríguez Rosales, Andrés Belver, Pablo Bueno, Juan Pedro Donaire
Estación Experimental de Zaidín, CSIC, 18008 Granada, España

Se estudió la expresión de proteínas relacionadas con la patogénesis (PRs) en hojas de tomate sanas e inoculadas con *Alternaria solani*. Sus relaciones serológicas fueron determinadas empleando antisueros específicos contra diferentes PRs inducidas en cebada y tabaco. Se detectaron proteínas similares a taumatina, PRs de la familia 1 y enzimas como quitinasas y glucanasas. Se ensayó la actividad de estas enzimas, así como de peroxidasas y polifenoloxidasas y sus isoformas. Los niveles de actividad específica fueron mayores en las plantas inoculadas con respecto a los controles y en la variedad resistente se obtuvieron incrementos superiores en comparación con la susceptible. La expresión de una isoforma de lipoxigenasa (LOX) y las actividades de enzimas antioxidantes también fueron estudiadas. La LOX fue purificada en la variedad NC EBR-1 infectada con el hongo a las 24 horas de post-inoculación, por precipitación con acetona (70%), cromatografía en DEAE-Sephadex A-25 y Sephadex G-150. Se analizó la dinámica de RNAm de LOX en plantas sanas e inoculadas hasta las 24 horas de post-inoculación. Los niveles de actividad específica fueron mayores en las plantas inoculadas en comparación con los controles y en la variedad resistente fueron obtenidos incrementos mayores. Se sugiere que algunas de estas proteínas de señalización y defensa pudieran estar relacionadas con los mecanismos de defensa en esta interacción.

Análisis molecular mediante PCR-RFLP's del género *Polylepis* en el Ecuador

Juan A. Lizarzaburu, Alexandra Narváez-Trujillo
Laboratorio de Sistemática Molecular de Plantas/Biotecnología, Departamento de Ciencias Biológicas, Apartado Postal 17-01-2184, Quito, Ecuador
lizar21@hotmail.com
anarvaez@puceuo.puce.edu.ec

El género *Polylepis* (Rosaceae) está conformado por 18 especies restringidas a la cordillera de los Andes, desde Venezuela hasta el norte de Argentina y Chile, de las cuales siete están presentes en Ecuador: *P. pauta*, *P. sericea*, *P. lanuginosa*, *P. reticulata*, *P. weberbaueri*, *P. microphylla* y *P. incana*. A pesar de existir diferencias taxonómicas marcadas en el género, en zonas de simpatria, puede existir un flujo génico entre ellas, provocando así individuos con características taxonómicas intermedias que dificultan su clasificación, tal es el caso de *P. sericea* y *P. pauta*. Para determinar la sistemática molecular del grupo en el Ecuador se utilizó la técnica molecular de polimorfismos en longitud de fragmentos de restricción de productos de PCR (PCR-RFLP). Esta consiste en la amplificación de un segmento de aproximadamente 2400 pb del gen cloroplástico *trnK*, que codifica para el RNA de transferencia de Lisina (tRNA-Lys), el mismo que fue digerido con nueve endonucleasas, cinco de corte frecuente y cuatro de corte infrecuente. Se tomó como grupo externo dos especies del género más relacionado (Romoleroux, 1996) *Acaena*: *A. elongata* y *A. ovalifolia*. Hasta el momento no se han determinado polimorfismos entre las especies ensayadas, esto puede demostrar un alto grado de conservación entre las especies. Los resultados obtenidos hasta el momento serán ampliados en cuanto a número de endonucleasas utilizadas, a la vez que se implementará la técnica de AFLP's que por ser de mayor sensibilidad podrá relevar la existencia de diferencias moleculares entre las especies.

**Rosemary López,
Ondina León**
Departamento de
Fisiopatología Vegetal,
Centro Nacional de Sani-
dad Agropecuaria, San
José de Las Lajas, La
Habana, Cuba, Apdo 10
riopez@censa.edu.cu

**Marco Antonio
Villanueva**
Departamento de Biolo-
gía Molecular de plantas,
Instituto de Biotecnología,
Universidad Nacional
Autónoma de México,
Cuernavaca, México,
Apdo 622 71

**Enrique Aguilar
Fernández**
Centro de Biología
Molecular y
Biotecnología, Universi-
dad Tecnológica de
Pereira
Eaf578@yahoo.com

Caracterización de una β -1,3-glucanasa de caña de azúcar relacionada con la respuesta de defensa a estrés fúngico

El objetivo del trabajo fue identificar genes y proteínas de caña de azúcar relacionados con la respuesta de defensa frente al ataque de *Puccinia melanocephala* H & P.Sydow. La estrategia utilizada para la identificación de dichos genes consistió en la construcción de una biblioteca sustractiva de ADN a partir de ARN de hojas infectadas con el hongo y ARN de hojas sanas. La selección de los clones se realizó utilizando una sonda β -1,3-glucanasa de cebada. Se determinó la secuencia nucleotídica de uno de los clones en ambas direcciones y utilizando el programa FASTA, mostró un alto grado de identidad con β -1,3-glucanasa de otras poaceas. Por Northern blot se observó la inducción diferencial en el tiempo postinoculación de los transcritos entre variedades resistentes y susceptibles, siendo más rápida e intensa la expresión en variedades resistentes. La purificación de la proteína se realizó por rotofor-cell, columna de hidroxapatita, se detectó una sola isoforma con movilidad relativa correspondiente al PM de cerca de 42 KDa por SDS-PAGE. Un anticuerpo policlonal levantado contra la proteína purificada fue utilizado para el análisis de las glucanasas por Western blot, observándose el mismo patrón de expresión que a nivel de ARN, datos de actividad enzimática e isoenzimas, lo que evidencia la relación de esta enzima con los mecanismos defensivos de la caña de azúcar ante el ataque de *P.melanocephala*.

Caracterización molecular por AFLPs de la colección de germoplasma de morera (*Morus* sp.) del centro de desarrollo tecnológico en sericultura (CDTS)

En Colombia la cría de gusano de seda se ha venido promoviendo en varias regiones como una alternativa ante la crisis del café. Por lo tanto, el establecimiento de los programas de mejoramiento y conservación de fuentes de germoplasma de morera existentes es uno de los primeros y más importantes pasos. En el presente estudio, se plantea determinar la diversidad del banco de germoplasma existente de morera (29 genotipos) en el Centro de Desarrollo Tecnológico en Sericultura (CDTS) al igual que las relaciones existentes entre los individuos de la colección, mediante el uso de marcadores AFLP. Se usaron tres combinaciones de cebadores con un rango de tamaño entre 35-500pb con un promedio de polimorfismo para las tres combinaciones de 52% para todos los genotipos analizados. El rango de distancia estuvo entre 0,07 y 0,25, lo cual indica que la colección de germoplasma de morera del CDTS es una población relativamente homogénea, con algunas excepciones. El dendrograma generado por el método de UPGMA permitió aglomerar los diferentes genotipos en 5 grupos los cuales en general se encontraron acordes con los realizados mediante los métodos tradicionales de caracteres morfológicos. La técnica de AFLP es un buen método de análisis para determinar la diversidad genética en vegetales, ya que aporta un buen número de bandas y un alto grado de polimorfismo útil. Estos resultados ayudaran a la formulación de estrategias para la conservación y mejoramiento de variedades de morera, para las cuales no existe conocimiento acerca de la diversidad actualmente disponible.

Mecanismos de defensa en la interacción caña de azúcar - *Ustilago scitaminea*

**Rosemary López,
María la O.**

Ricardo Acevedo,

Eida Rodríguez,

Ondina León

Departamento de
Fisiopatología Vegetal,
Centro Nacional de Sani-
dad Agropecuaria, Carre-
tera de Tapaste y Autopis-
ta Nacional, Apdo 10,
San José de las Lajas, La
Habana, Cuba
rlopez@censa.edu.cu

El carbón de la caña de azúcar, causado por *Ustilago scitaminea* Sydow, es considerado actualmente como una de las enfermedades más dañinas que afecta este cultivo. El estudio de indicadores bioquímicos facilitará los procesos de obtención y selección de nuevos genotipos resistentes. Se estudió la expresión de proteínas relacionadas con la patogénesis (PRs) en hojas de caña de azúcar sanas e inoculadas con el patógeno por Western blot, Northern blot utilizando antisueros específicos contra diferentes PRs inducidas en cebada y sondas de PRs heterólogas de cebada. Se detectaron proteínas similares a PRs de la familia 1 y enzimas como quitinasas y glucanasas. Se ensayó la actividad de estas enzimas, así como de peroxidases y polifenoloxidasas y sus isoformas. Los niveles de actividad específica fueron mayores en las plantas inoculadas con respecto a los controles y en la variedad resistente se obtuvieron incrementos superiores en comparación con la susceptible. Se sugiere que algunas de estas proteínas pudieran estar relacionadas con los mecanismos de defensa en esta interacción.

Evaluación de plantas transgénicas de papa conteniendo genes de resistencia a enfermedades fúngicas y de la utilización de marcadores selectivos alternativos para el apilamiento de transgenes

**Verónica Romero,
Cecilia Vázquez-**

Rovere,

Sebastián Asurmendi,

H. Esteban Hopp

Instituto de Biotecnología,
INTA Castelar, Las Caba-
ñas y Los Reseros,
Hurlingham, Buenos Ai-
res, Argentina
Imariaveronicaromero@yahoo.com

La introducción de genes que codifican para proteínas relacionadas con la patogénesis, las proteínas PR ("Pathogenesis-Related proteins"), confiere protección de amplio espectro en plantas, ya que refuerza las respuestas de defensa inducibles contra patógenos invasores. Sin embargo, para mejorar la eficiencia del sistema de defensa es importante imitar una de las características de las respuestas de hipersensibilidad que es la de disparar simultáneamente la expresión de varias proteínas PR que actúan de manera sinérgica. En el presente trabajo se optimizó la concentración selectiva del marcador secundario higromicina (12 mg/l) como alternativo a la kanamicina, con una eficiencia de selección de 75%, para el cultivar Kennebec de papa (*Solanum tuberosum tuberosum*). El objetivo de este trabajo fue la utilización de más de un marcador en el diseño de construcciones que permitieron apilar en este genotipo varios transgenes de interés de manera simultánea o sucesiva. Para ello se emplearon construcciones conteniendo ADNc codificantes para una quitinasa (CHI) de *Hordeum vulgare* clase II, para una b-1,3 glucanasa (GLU) de *Nicotiana tabacum* clase I, para una proteína inhibidora de ribosomas ("Ribosome-inactivating protein"; RIP) tipo I de *Hordeum vulgare* y para la proteína AP24 de *Nicotiana tabacum tumefaciens*, y se obtuvieron plantas transgénicas por transformación vía *Agrobacterium tumefaciens*. Los distintos eventos transgénicos seleccionados en presencia de los agentes selectivos fueron evaluados por PCR y Western blot. De esta manera se seleccionaron los eventos con un alto nivel de expresión de las proteínas de interés, y se realizaron ensayos de desafío frente al patógeno *R. solani*. Entre las líneas evaluadas se encontraron dos que presentaban un elevado nivel de tolerancia al patógeno, las cuales están siendo evaluadas con fines comerciales en ensayos a campo.

Alexandra Narváez Trujillo,
Gérard Second
 Laboratorio de
 Sistemática Molecular de
 Plantas/Biotecnología,
 Departamento de
 Ciencias Biológicas,
 Apartado Postal 17-01-
 2184, Quito, Ecuador.
 gsecond@mpl.ird.fr
 anarvaez@puceuo.puce.edu.ec

***Manihot leptophylla* (Euphorbiaceae), una especie restringida a la costa pacífica de Colombia y Ecuador y su relación con otras especies del género**

El género *Manihot* (Euphorbiaceae) es muy diverso y comprende a la especie cultivada de yuca *Manihot esculenta* y otras especies silvestres relacionadas. Este género se extiende desde el sur de Arizona, USA hasta el norte de Argentina. Ha habido una continua discusión con respecto al origen de la especie cultivada, *Manihot esculenta*. A pesar de que el origen de la yuca ha sido determinado para la zona sur de Brasil, siendo *M. flabellifolia* la especie silvestre más emparentada, aún existe ambigüedad con respecto a la influencia de otras especies silvestres en su origen, especialmente tomando en cuenta que *Manihot esculenta* puede considerarse como un complejo de especies con diversos orígenes. *Manihot leptophylla* es una especie silvestre cuya distribución ha sido reportada para los dos lados de Los Andes, desde el sur de Colombia, Ecuador, Perú y hasta Belém en Brasil. No obstante, nuestras revisiones de las muestras de herbario indican posibles incongruencias en la identificación taxonómica y más bien lleva a pensar en la diferenciación de una especie restringida al lado oeste de Los Andes cuyo tipo corresponde a la Provincia de Manabí en el Ecuador. Análisis moleculares (AFLPs) de *M. esculenta*, *M. brachyloba*, *M. peruviana*, *M. flabellifolia* y *M. leptophylla* indican una clara diferenciación de *M. leptophylla*. Análisis de secuenciación, SSR's y AFLPs se están utilizando para determinar la relación de *M. leptophylla* con los clados centroamericano y sudamericano del género, así como aclarar su posición sistemática y una posible contribución a la constitución genética de la yuca por introgresión.

Estimación de la diversidad genética y análisis de la variación morfológica del mangle negro o iguanero (*Avicennia germinans* L.) de la costa pacífica colombiana

Ivania Cerón-Souza,
Nelson Toro-Perea,
Heiber Cárdenas-Henao
 Universidad del Valle, Departamento de Biología, Sección de Genética. Apartado 25360 Cali-Valle-Colombia
 ivceron@hotmail.com
 nelstoro@biologos.univalle.edu.co
 hecarden@yahoo.es

Con el objetivo de estimar la diversidad genética del mangle negro o iguanero (*Avicennia germinans* L.) en la costa Pacífica colombiana, se utilizó el marcador molecular AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism). Se obtuvieron 172 bandas sin ambigüedades de 45 individuos en 4 localidades: 11 de Virudó-Chocó, 10 de La Plata-Valle del Cauca, 12 de Tumaco-Nariño y 12 de Chontal-Nariño. El Análisis Molecular de Varianza (AMOVA), la distancia genética de Nei y la prueba exacta de diferenciación poblacional, evidenciaron la existencia de dos poblaciones genéticamente diferentes: 1) Tumaco y 2) Chontal/Virudó/La Plata. Probablemente, la diferenciación genética de Tumaco puede ser el producto de distintos eventos geológicos y flujos de corrientes restringidos, que están aislando genéticamente esta población del resto de la costa Pacífica. Para el estudio morfológico, se analizaron 120 individuos, 31 de Virudó-Chocó, 31 de La Plata-Valle del Cauca, 29 de Tumaco-Nariño y 29 de Chontal-Nariño. El Análisis de Varianza (ANOVA) mostró que la altura (m), el DAP (Diámetro a la Altura del Pecho) (cm) y el largo de la hoja (cm) de los individuos de Virudó-Chocó son significativamente mayores respecto a los individuos de las localidades restantes, quienes no presentaron diferencias significativas entre sí. Apparentemente, la morfología de los árboles está ligada a condiciones locales, ya que el grado de desarrollo estructural coincidió con el tipo de manglar (borde, barra y ribera) y con el grado de presión antropogénica.

Genética poblacional de un gen de resistencia en poblaciones naturales de *Solanum pimpinellifolium*

Ana Lucía Caicedo
Dept. of Biology, Wash-
ington University, Campus
Box 1137, St. Louis, MO
63130, U.S.A
alcaiced@artsci.wustl.edu

Estudios de la base molecular de la evolución adaptativa están empezando a ser posibles gracias a avances recientes en la identificación y clonación de genes de posible importancia ecológica. En plantas, se han clonado algunos genes involucrados en el reconocimiento de patógenos (i.e. genes de resistencia), pero se sabe muy poco acerca de los procesos microevolutivos que puedan estar afectando su evolución. Este estudio representa un sondeo del nivel y distribución de la variación de secuencia de ADN del gen *Cf-2* en *Solanum pimpinellifolium*, pariente cercano del tomate cultivado. *Cf-2* está involucrado en resistencia a razas del hongo, *Cladosporium fulvum*, que poseen el gen de avirulencia *Avr2*, y es uno de los pocos genes de resistencia secuenciados en una especie no cultivada. Poblaciones de *S. pimpinellifolium* presentan un alto nivel de polimorfismo para *Cf-2*, tanto dentro como entre poblaciones. El nivel de variación en *Cf-2* es mayor que el de un gen neutral secuenciado en *S. pimpinellifolium*, sugiriendo que hay selección para variación o evolución muy rápida en *Cf-2*. Análisis moleculares indican que *Cf-2* está evolucionando por sustituciones simples de nucleótidos y por mecanismos complejos como duplicación y recombinación desigual. Los mecanismos evolutivos parecen afectar porciones del gen diferencialmente, probablemente relacionado con la estructura y función de la proteína que codifica. Actualmente estamos implementando un enfoque filogeográfico para entender el contexto geográfico en el cual ha evolucionado *Cf-2*.

Evaluación de la diversidad genética del mangle Piñuelo *Pelliciera rhizophorae* en seis zonas de la costa pacífica colombiana, utilizando el marcador molecular AFLP

**María Fernanda Casti-
llo,**
Nelson Toro,
Heiber Cárdenas
Sección de Genética,
Departamento de Biolo-
gía, Universidad del Valle,
Apartado 25360, Cali,
Valle, Colombia
mfcast@hotmail.com
nelstoro@biologos.univalle.edu.co
hecarden@yahoo.es

Se evaluó la variabilidad genética entre y dentro de seis poblaciones de la especie *Pelliciera rhizophorae*, ubicadas en la Costa Pacífica Colombiana: Chocó (Virudó y Charambirá), Valle del Cauca (Isla La Plata) y Nariño (Tumaco, Milagros y Chontal). Para el análisis molecular se aisló ADN de tejido foliar de 58 individuos colectados en las seis zonas. Este se evaluó mediante la técnica de marcadores moleculares AFLP, utilizando cuatro combinaciones de cebadores. Se obtuvo un total de 287 fragmentos amplificados, de estos 172 (60%) fueron polimórficos. La heterocigosidad promedio (H) en la población total, fue de 0,26. Dentro de poblaciones, los valores estimados estuvieron entre 0,10 y 0,21, siendo Chontal, la población que exhibió el valor más alto (H= 0,26). El AMOVA mostró una variación genética significativa entre poblaciones (28,43%, $p < 0,001$), aunque también se observó que la variación genética dentro de estas es alta (71,57%). Dicha variación interpoblacional, no se encontró correlacionada con la distancia geográfica entre zonas como lo mostró la prueba de Mantel (0,224£P£0,778). Los valores de F_{st} y el análisis de agrupamiento UPGMA, revelaron que la localidad de Chontal presenta el mayor grado de diferenciación genética comparada con las demás localidades evaluadas. Se propone que la dispersión y el flujo génico entre y dentro de zonas está siendo influenciado por el flujo de corrientes marinas superficiales y por aves polinizadoras. Con base en los resultados obtenidos, se hizo un diagnóstico preliminar del estado del mangle piñuelo en las seis localidades.

Detección del transposón *MuDR* de la familia *Mutator* de maíz (*Zea mays*) en las razas Bolita y Zapalote chico en Oaxaca, México como herramienta de seguimiento de flujo génico

Fabiola Ramírez Corona*,

Julien Berthaud**

+Instituto de Ecología,
UNAM, Apdo. postal 70-
275 Ciudad Universitaria
UNAM 04510 México D.F.

* Centro de Biotecnología
Aplicada, CIMMYT, INC.
México, Apdo. postal 6-
641, 06600 México, D.F.
°IRD, Francia

framirez@mirandaecologia.unam.mx,
j.berthaud@cgiar.org

México es un centro primario de la diversidad de maíz, A raíz de su domesticación, se ha propuesto que los elementos transposables y la selección para el crecimiento en muchos hábitats han jugado papeles importantes en la generación y el mantenimiento de la alta diversidad del maíz. Los transposones *Mutator* del maíz son una de las familias de elementos transposables más activas descritas en algún organismo. La actividad del *Mutator* del maíz está definida entre otras características por una alta frecuencia de mutación. El *MuDR* es el elemento regulador del *Mutatory* está presente en las líneas estándar mutantes de Robertson (1978) originales y se ha descrito un *MuDR* en algunas pocas accesiones de Zapalote chico de México. El objetivo de este estudio es detectar la presencia del *MuDR* en la raza Bolita colectada en Oaxaca y en 69 accesiones de Zapalote chico del banco de germoplasma del CIMMYT como herramienta de detección de flujo de genes debido a que hemos detectado mediante encuestas que existe un frecuente intercambio de semillas entre estas razas. Resultados preliminares obtenidos mediante Southern blot y PCR's indican la presencia de un *MuDR* intacto, no metilado en 18 accesiones de Bolitas y hasta el momento en 15 accesiones de Zapalote chico que difieren en tamaño con respecto al *MuDR* estándar, lo que concuerda con lo descrito para el *MuDR-Zc*. Las accesiones de Bolitas que han recibido introducciones de Zapalote chico como una práctica agrícola de manejo campesino, resultaron positivas en la detección de un *MuDR-Zc*.