

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE UN GRUPO DE VARIEDADES DE CAÑA DE AZÚCAR DEL PROGRAMA DE MEJORAMIENTO CUBANO

Mayra Rodríguez✉, O. Coto, Ingrid Hernández, Miladys Delgado y María T. Cornide

ABSTRACT. In the present paper, a sugarcane collection used as parents for early ripening and high sugar content, was studied by molecular markers based on amplified fragment length polymorphism technique (AFLP). Fourteen primer combinations were able to recognize two markers of genetic diversity groups and 48 individual differential fragments. These markers allowed to identify 11 out of the 15 genotypes studied. The differential markers were introduced in the Cuban sugarcane germplasm database (BANCOGER), which could be also useful for mapping purposes in sugarcane.

RESUMEN. En el presente trabajo se realiza el estudio de una colección de variedades de caña de azúcar, utilizadas como progenitores para la madurez temprana y el alto contenido azucarero mediante marcadores moleculares, basado en el polimorfismo de la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP). Con el empleo de 14 combinaciones de cebadores, se lograron identificar dos marcadores para los grupos de diversidad genética y 48 fragmentos diferenciales, que permitieron la identificación de 11 de los 15 genotipos estudiados. Estos marcadores detectados fueron introducidos en la base de datos del banco de germoplasma de la caña de azúcar en Cuba (BANCOGER) y resultan de utilidad para la realización de futuros trabajos de mapeo genético del cultivo.

Key words: sugarcane, varieties, genetic markers, genetic maps, genetic polymorphism

Palabras clave: caña de azúcar, variedades, marcadores genéticos, mapas genéticos, polimorfismo genético

INTRODUCCIÓN

Las tecnologías utilizadas en la evaluación de variedades y semillas han sido establecidas durante muchos años y se basan en enfoques bien establecidos. En este sentido, la identificación varietal se realiza comúnmente a partir de la observación de un grupo de descriptores morfológicos(1). Sin embargo, muchos de estos descriptores son caracteres continuos, su expresión es afectada por factores ambientales y, por otro lado, en algunas especies el número de descriptores de utilidad es limitado.

Una alternativa potencialmente atractiva para la identificación varietal lo constituye el uso de marcadores moleculares y/o bioquímicos, los cuales resultan también de utilidad en la determinación de la calidad de la

semilla y su sanidad (2, 3, 4, 5). En este sentido, existen proyectos internacionales que evalúan los beneficios potenciales de los marcadores moleculares, teniendo en cuenta su rapidez y certeza en la evaluación de lotes de semilla híbrida (6).

Los métodos basados en la hibridación, entre los que se incluyen el polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), fueron los más informados para revelar variaciones en la secuencia de ADN en un amplio rango de organismos, incluidas las plantas, confirmando además sus potencialidades para la identificación varietal (6).

Desde 1998, se comenzaron a utilizar en Cuba los descriptores moleculares, para asistir a los métodos tradicionales en la selección de los recursos genéticos del programa de introgresión de la caña de azúcar. El primer sistema de identificación genotípica basado en RFLP presentó, para dos colecciones de trabajo del germoplasma: una de formas originales y otra de plantas transgénicas; grupos de RFLPs de origen nuclear y citoplasmático fueron utilizados para separar grupos de clones en cada colección y proporcionar información de utilidad para la identificación taxonómica y el mejoramiento genético (7).

En los momentos actuales, son dos las técnicas moleculares que más se explotan en la evaluación de variedades y su identificación: los AFLPs (8) y

Ms.C. Mayra Rodríguez, Investigador Auxiliar e Ingrid Hernández, Investigador Agregado del Departamento de Genómica Funcional de Plantas, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB); Dr.C. O. Coto, Investigador Auxiliar del Departamento de Mejoramiento y Atención a Plantaciones del Grupo de Mejoramiento Genético, Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical (IIFT), ave. 7ma., no. 3005, e/ 30 y 32, Playa; Miladys Delgado, Especialista y Dra.C. María T. Cornide, Investigador Titular del Departamento de Genética, Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA), Ministerio del Azúcar, Ciudad de La Habana.

✉ mayra.rodriguez@cigb.edu.cu

microsatélites (9), ambas tecnologías ofrecen varias ventajas sobre el resto de los marcadores moleculares presentados (10, 11).

La técnica de AFLP revela fundamentalmente el polimorfismo dominante, que puede ser por la presencia o ausencia del sitio de restricción o por una simple variación de un nucleótido en el genoma (12, 13). Una de sus principales ventajas es que tiene la capacidad de explorar simultáneamente muchas regiones diferentes distribuidas aleatoriamente en el genoma (13), por lo que ha constituido una herramienta muy útil para la identificación del genoma y evaluar la diversidad genética en varias especies de plantas, entre las que se incluyen papaia (14), híbridos de musa (15) y en cultivares de uvas (16), entre otras. Un análisis con múltiples combinaciones de cebadores puede detectar cientos de *loci* genéticos en un corto período de tiempo; en ello se basa la rapidez de esta técnica, su potencia y las necesidades mínimas de un trabajo inicial (8).

Recientemente, se informó el uso en Cuba de los AFLP en la caracterización de 27 variedades de caña de azúcar, recomendadas para su extensión por las diferentes estaciones experimentales que conforman el Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA); estas variedades fueron recomendadas para su manejo y explotación en las condiciones donde fueron estudiadas (17).

Teniendo en cuenta las ventajas descritas anteriormente, los objetivos trazados en el presente trabajo fueron detectar marcadores AFLP, que permitan la identificación de un grupo de variedades de caña de azúcar, regularmente utilizadas como progenitores para el alto contenido azucarero y la madurez temprana, así como recomendar combinaciones de cebadores más polimórficas, para futuros trabajos de mapeo en progenies derivadas de cruces entre estos progenitores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Se analizaron 15 variedades de caña de azúcar, utilizadas regularmente como progenitores en el programa de mejoramiento de este cultivo en Cuba para la madurez temprana y el alto contenido azucarero Ja 64-19, Mex 69-290, Mex 68 P 23, Mex 57-473, CP 74-2005, C 568-75, Mex 66-1235, PR 980, My 5514, C 323-68, Ja 60-5, C 1051-73, C 87-51, CP 52-43 y CP 72-2086. Las muestras vegetales fueron suministradas por el banco de germoplasma de este cultivo del Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA).

Análisis de AFLP. El ADN genómico total de cada genotipo se aisló a partir de hojas liofilizadas (18). El análisis AFLP se hizo utilizando el juego número I del Sistema de Análisis de AFLP, (*GIBCO BRL, Life Technologies*). Se siguió esencialmente el procedimiento descrito para este tipo de marcador molecular (8). Los ADN genómicos fueron digeridos con una combinación de enzimas: una de corte raro (*EcoRI*) y otra de corte frecuente (*MseI*). Los

fragmentos digeridos se acoplaron con adaptadores específicos de doble cadena. Luego se realizaron amplificaciones selectivas con cebadores específicos de una base, *EcoRI+A* y *MseI+C*, seguidas de amplificaciones con cebadores específicos de tres bases selectivas, *EcoRI+ANN* y *MseI+CNN* (Tabla I).

Tabla I. Adaptadores y cebadores utilizados

Adaptadores y cebadores	Secuencia
<i>EcoRI</i> adaptador	5'-CTCGTAGACTGCGTACC CATCTGACGCATGGTTAA-5'
<i>EcoRI</i> cebador +1 (A)	5'-GACTGCGTACCAATTCA -3'
<i>EcoRI</i> cebador +3 (ANN)	5'-GACTGCGTACCAATTCANN-3'
<i>MseI</i> adaptador superior	5'-GACGATGAGTCCTGAG TACTCAGGACTCAT-5'
<i>MseI</i> cebador +1 (C)	5'-GATGAGTCCTGAGTAAC-3'
<i>MseI</i> cebador +3 (CNN)	5'-GATGAGTCCTGAGTAACNN-3'

Los ADN amplificados fueron desnaturalizados adicionándoles un volumen igual de tampón de formamida (formamida 98 % (v/v), 10 mM EDTA, pH 8.0, 0.05 % bromofenol azul (w/v), y 0.05 % xylene cyanol (w/v)); fueron calentados durante cinco minutos a 93 °C y enfriados en hielo rápidamente. Los fragmentos amplificados se separaron por electroforesis en geles de poli(acrilamida) al 6.5 % en condiciones desnaturalizantes.

Los patrones de AFLP se visualizaron utilizando el método de tinción con plata, de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Promega Cat. # TMD005). Los geles se leyeron de forma visual y las bandas polimórficas se evaluaron de forma binaria con 1 y 0 para la presencia o ausencia respectivamente. La talla de las bandas se obtuvo por comparación con un patrón de peso molecular de 100 pb. La denominación de las bandas consta primero del número de la combinación de cebadores a la que pertenece y después de la propia banda en dicha combinación.

Para determinar el polimorfismo entre los progenitores, se utilizaron las 14 combinaciones de cebadores que se muestran en la Tabla II.

Tabla II. Combinaciones de cebadores utilizados en la identificación de las variedades estudiadas

No. combinaciones	Nucleótido selectivo +3 <i>EcoRI</i> -ANN/ <i>MseI</i> -CNN
1	<i>EcoRI</i> -ACT/ <i>MseI</i> -CTA
2	<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CAT
3	<i>EcoRI</i> -ACA/ <i>MseI</i> -CTA
4	<i>EcoRI</i> -ACT/ <i>MseI</i> -CAT
5	<i>EcoRI</i> -AAC/ <i>MseI</i> -CAT
6	<i>EcoRI</i> -ACG/ <i>MseI</i> -CAC
7	<i>EcoRI</i> -AAG/ <i>MseI</i> -CTG
8	<i>EcoRI</i> -ACC/ <i>MseI</i> -CTA
9	<i>EcoRI</i> -AGC/ <i>MseI</i> -CAA
10	<i>EcoRI</i> -ACG/ <i>MseI</i> -CTC
11	<i>EcoRI</i> -AGC/ <i>MseI</i> -CTT
12	<i>EcoRI</i> -AGG/ <i>MseI</i> -CTC
13	<i>EcoRI</i> -ACC/ <i>MseI</i> -CTG
14	<i>EcoRI</i> -AAC/ <i>MseI</i> -CTC

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las 14 combinaciones de cebadores utilizadas produjeron un total de 1 523 bandas totales, el tamaño de los fragmentos osciló entre 50 y 800 pb, de las cuales 661 bandas, con tallas que oscilaban entre 200-700 pb, mostraron buena calidad y permitieron discriminar el polimorfismo existente. Se lograron detectar 309 bandas polimórficas entre los genotipos, para un 46.7 % de polimorfismo. Basado en el porcentaje de los fragmentos polimórficos, se pueden observar diferencias en los niveles de polimorfismo en las combinaciones de cebadores usadas que se encuentran entre 18.4 y 69 % de polimorfismo. En la Tabla III se muestran los resultados del polimorfismo revelado por AFLP en las variedades de caña de azúcar estudiadas. La Figura 1 muestra una sección de la electroforesis de AFLP correspondiente a la combinación de cebadores *EcoRI-ACA/ MseI-CTA*.

Tabla III. Resultados del polimorfismo revelado por AFLP en las variedades de caña de azúcar estudiadas

No. combinación	Bandas totales	Bandas consideradas ¹	Bandas polimórficas ²	Polimorfismo (%)	Bandas únicas
1	124	35	8	23	0
2	100	48	9	18.45	2
3	110	53	32	60.37	7
4	81	46	20	43.47	3
5	101	37	15	40.54	2
6	105	39	25	64.1	6
7	122	53	15	28.3	3
8	129	51	26	51	2
9	184	85	54	63.5	7
10	125	42	29	69	3
11	78	51	23	45.1	6
12	96	40	13	32.5	5
13	86	43	29	67.4	4
14	82	38	11	29	0
Total	1523	661	309	46.7	48

(1): Bandas consideradas en el rango de 200 a 700 pb

(2): Polimorfismo encontrado en el rango considerado (200-700 bp)

El análisis realizado permitió detectar, en los genotipos evaluados, la presencia de los dos tipos de descriptores presentados previamente (16), marcadores de grupo (G) y marcadores individuales (I). Se detectaron 48 fragmentos individuales polimórficos o bandas únicas en 12 de las combinaciones de cebadores, que permitieron identificar a 11 de los 15 genotipos estudiados (Tabla IV). Las variedades C 1051-73, C 87-51, CP 52-43 y CP 72-2086 no se lograron identificar mediante marcadores moleculares individuales, por lo que se recomienda incluir combinaciones adicionales de cebadores u otro tipo de marcador que permita su identificación. Resultados recientes informados en la caña de azúcar indican que los microsatélites fácilmente proporcionan información, no solo sobre la diversidad genética de los clones y la asociación entre bandas o patrones de bandas con caracteres de interés, sino de los patrones para la identificación de progenitores e individuos obtenidos por cruzamiento y la detección de progenies derivadas de polen contaminado (19).



Figura 1. Patrones de AFLP obtenidos con la combinación de cebadores (*EcoRI-ACA/MseI-CTA*) de los progenitores estudiados. (1) C 323-68, (2) Ja 60-5, (3) C 568-75, (4) Ja 64-19, (5) CP 74-2005, (6) CP 72-2086, (7) Mex 66-1235, (8) Mex 69-290, (9) PR 980, (10) My 55-14, (11) Mex 68 P23, (12) C 87-51, (13) C 1051-73, (14) Mex 57-473, (15) CP 52-43

Además, se detectaron marcadores de grupos en esta colección, que pertenecen a la combinación de cebadores *EcoRI-ACA/ MseI-CTA* (Tabla V). Esta tercera combinación de cebadores permitió identificar a los genotipos que conforman dos grupos presentados previamente en estudios de diversidad genética (20). El primer grupo está formado por las variedades PR 980 y My 5514, las cuales son los únicos portadores del fragmento 3/11 con una talla de 465 pb. El segundo de los grupos presentados previamente está formado por los genotipos C 323-68 y Ja 60-5, variedades que son los únicos portadores del fragmento 3/4 de 590 pb.

Varios centros de investigación en todo el mundo han comenzado a desarrollar recientemente programas de investigación, con el fin de utilizar varios tipos de marcadores moleculares para la identificación varietal en un amplio rango de cultivos que incluyen el trigo, la cebada, el tomate y la papa (6). Los esfuerzos nacionales en la aplicación de los marcadores moleculares AFLP con fines de identificación en este cultivo han sido limitados. Los primeros intentos de aplicación de este tipo de marcador fueron encaminados a evaluar la variación somaclonal en plantas transgénicas y para la protección legal de plantas transgénicas resistentes al ataque de plagas(21).

Tabla IV. Bandas diferenciales individuales obtenidas por AFLP de las variedades de caña de azúcar estudiadas

Código	Genotipo	Bandas individuales diferenciales							
1723	Mex 69-290	banda	4/19						
		PM (pb)	450						
1721	Mex 68 P 23	banda	3/16						
		PM (pb)	425						
1654	Mex 57-473	banda	3/22						
		PM (pb)	315						
1492	Ja 64-19	banda	7/13	11/4					
		PM (pb)	425	285					
1085	CP 74-2005	banda	7/11	11/21					
		PM (pb)	350	206					
2172	PR 980	banda	2/2	6/1					
		PM (pb)	695	780					
2172	PR 980	banda	2/2	6/1					
		PM (pb)	695	780					
622	C 568-75	banda	6/24	9/28	940				
		PM (pb)	360	352	300				
1868	My 5514	banda	3/9	3/17	3/21				
		PM (pb)	480	400	335				
1716	Mex 66-1235	banda	3/32	6/19	9/43	13/7			
		PM (pb)	235	400	290	280			
586	C 323-68	banda	4/9	7/4	10/5	11/7	14/3	14/20	14/21
		PM (pb)	560	495	445	380	520	270	268
1483	Ja 60-5	banda	2/8	3/30	4/2	5/6	5/12	6/9	6/15
		PM (pb)	320	245	700	430	315	510	425
		banda	8/21	8/23	9/19	9/21	9/36	9/37	10/3
		PM (pb)	293	275	370	367	315	310	480
		banda	10/15	11/11	11/14	12/1	12/2	12/3	12/5
		PM (pb)	363	350	270	500	440	430	405
		banda	12/6						
		PM (pb)	402						

PM: peso molecular expresado en pares de bases (pb)

Tabla V. Bandas diferenciales de grupos de diversidad molecular obtenidas por AFLP de las variedades de caña de azúcar estudiadas

Grupo	Código	Genotipo	Banda	PM (pb)
1	2172	PR 980	3/11	465
	1868	My 5514		
2	586	C 323-68	3/4	690
	1483	Ja 60-5		

PM: peso molecular expresado en pares de bases (pb)

En caña de azúcar, los resultados presentados hasta el presente indican la utilización de los AFLPs, como vía para lograr una caracterización preliminar de los niveles de diversidad en colecciones silvestres de miembros del complejo *Saccharum* y para asistir a la elección de accesiones como posibles progenitores del programa de introgresión (22). En este sentido, la caracterización de las variedades alcanzada en el presente trabajo demuestra que también es posible utilizar este tipo de marcadores, para asistir al diseño de nuevas estrategias de mejoramiento en híbridos comerciales, en los cuales se acentúan las limitaciones relacionadas con la estrecha base genética y apoyan el uso potencial de marcadores AFLP como marcadores genéticos en caña de azúcar, para la

identificación dentro del mismo género con la ventaja adicional de una rápida generación de información (23).

Los marcadores AFLP de grupo e individuales informados en este trabajo se corresponden con la necesidad de disponer de un grupo de descriptores internacionalmente estandarizados (24) para la evaluación del germoplasma híbrido del género *Saccharum*, con el objetivo de facilitar la verificación de la identificación de los clones y también para ser usado a la hora de estimar las distancias genéticas (25).

Los resultados alcanzados en este trabajo significan un paso de avance en el intento de automatizar y hacer más confiable la identificación de variedades de caña de azúcar en el país, teniendo en cuenta que hasta el presente los principales descriptores de grupo e individuales presentados en genotipos de caña de azúcar se relacionan con marcadores RFLP y de cebadores específicos (7).

Por último, se informan combinaciones de cebadores polimórficas útiles, que han sido utilizadas exitosamente en la saturación del mapa genético de este cultivo (24); la utilidad de este tipo de marcadores moleculares ha sido demostrada en tomate (26), trigo (27) y caña de azúcar (28, 29).

CONCLUSIONES

- * Se lograron identificar 48 fragmentos diferenciales, que permitieron la identificación de 11 de los 15 genotipos estudiados, además de dos marcadores para los grupos de diversidad genética.
- * Se dispone de información acerca de combinaciones de cebadores, para la realización de futuros trabajos de mapeo genético en progenies obtenidas del cruzamiento de estas variedades utilizadas como progenitores en el mejoramiento genético de este cultivo.

RECOMENDACIONES

- * Utilizar los marcadores individuales y de grupos de diversidad presentados para la identificación rápida y precisa de los híbridos estudiados.
- * Realizar combinaciones adicionales de cebadores para la identificación del resto de los materiales incluidos en este trabajo.
- * Introducir nuevos marcadores de alto volumen como los microsatélites para la identificación varietal; realizar trabajos adicionales para continuar explorando la diversidad genética de este cultivo y disponer de nuevos marcadores polimórficos para futuros trabajos de mapeo genético.

REFERENCIAS

1. Cooke, R. J. Identification of food-grain varieties. Introduction: the reasons for variety identification. American Association of Cereal Chemist, St Paul, 1995, 17 p.
2. Blakemore, E. J. A.; Jaccoud Filho, D.; Rasmussen, O. F.; Reeves, J. C. y Simpkins, S. A. The use of PCR in seedborne pathogen identification and detection. En: Proceedings of the BCPC Symposium "Plant Health and the Single European Market". *BCPC Monograph*, 1993, no. 54, p. 329-334.
3. Reeves, J. C. Nucleic acid techniques in testing for seedborne diseases. *New Diagnostics in Crop Science*. Wallingford: CAB International, 1995, p. 127-149.
4. McDonald, M. B. Seed quality assessment. *Seed Science Research*, 1998, vol. 8, p. 265-275.
5. Smith, J. S. C. y Register, J. C. Genetic purity and testing technologies for seed quality: a company perspective. *Seed Science Research*, 1998, vol. 8, no. 2, p. 285-293.
6. Donini, P.; Cooke, R. J. y Reeves, J. C. Molecular markers in variety and seed testing. En: *Plant Genetic Engineering: Towards the Third Millennium*, Elsevier Science, 2000.
7. Cornide, M. T.; Coto, O.; Calvo, D.; Canales, E.; Prada, F. de y Pérez, G. Molecular markers for the identification and assisted management of genetic resources for sugarcane breeding. *Plant Varieties and Seeds*, 2000, vol. 13, p. 113-123.
8. Vos, P.; Hogers, R.; Bleeker, M.; Reijans, M.; Van de Lee, T.; Hornes, M.; Frejters, A.; Pot, J.; Peleman, J.; Kuiper, M. y Zabau, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acid Research*, 1995, vol. 21, p. 4407.
9. Morgante, M. y Olivieri, A. M. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *The Plant Journal*, 1993, vol. 3, p. 175-182.
10. Powell, W.; Morgante, M.; Andre, C.; Hanafey, M.; Vogel, J.; Tingey, S. y Rafalski, A. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol. Breed.*, 1996, vol. 2, p. 225-238.
11. Caetano-Anolles, G. y Trigiano, R. N. Nucleic acid markers in agricultural biotechnology. *AgBiotech News and Information*, 1997, vol. 9, p. 235.
12. Van Eck, H. J.; Vander Voort, R.; Draaistra, J.; Vanzandvoort, P.; Van Enckevort, E.; Segers, B.; Peleman, J.; Jacobsen, E.; Helder, J. y Bakker, J. The inheritance and chromosomal localization of AFLP markers in a non-inbred potato offspring. *Molec. Breeding*, 1995, vol. 1, p. 397-410.
13. Breyne, P.; Boerjan, W.; Gerats, T.; Van Montagu, M. y Van Gysel, A. Application of AFLP in plant breeding, molecular biology and genetics. *Belg. Journ. Bot.*, 1997, vol. 129, no. 2, p. 107-117.
14. Van Droogenbroeck, B.; Breyne, P.; Goetghebeur, P.; Romeijn-Peeters, E.; Kyndt, T. y Gheysen, G. AFLP analysis of genetic relationships among papaya and its wild relatives (Caricaceae) from Ecuador. *TAG*, 2002, vol. 105, no. 2-3, p. 289-297.
15. Lheureux, F.; Carreel, F.; Jenny, C.; Lockhart, B. y Iskra-Caruana, M. Identification of genetic markers linked to banana streak disease expression in inter-specific *Musa* hybrids. *TAG*, 2003, vol. 106, no. 4, p. 594-598.
16. Fanizza, G.; Chaabane, R.; Lamaj, F.; Ricciardi, L. y Resta, P. AFLP analysis of genetic relationships among aromatic grapevines (*Vitis vinifera*). *TAG*, 2003, vol. 107, no. 6, p. 1043-1047.
17. Jorge, H. /et al./ Catálogo de nuevas variedades de caña de azúcar. Publicinca, La Habana, 2004.
18. Hoisington, D. Laboratory protocols. CIMMYT Applied Molecular Genetics Laboratory. C. Mexico, CIMMYT, 1992.
19. Cordeiro, G. M.; Yong-Bao, P. y Henry, R. J. Sugarcane microsatellites for the assessment of genetic diversity in sugarcane germplasm. *Plant Science*, 2003, vol. 165, p. 181-189.
20. Rodríguez, M.; Hernández, I.; Coto, O.; Canales, E. y Cornide, M. T. RFLP and AFLP polymorphism analysis in sugarcane varieties. *Revista CENIC, Ciencias Biológicas*, 2003, vol. 34, no. 3.
21. Arencibia, A.; Carmona, E.; Cornide, M. T.; Castiglione, S.; O'Reilly, J.; Chinea, A.; Oramas, P. y Sala, F. Somaclonal variation in insect-resistant transgenic sugarcane (*Saccharum* hybrid) plants produced by cell electroporation. *Transgenic Research*, 1999, vol. 8, p. 349-360.
22. Besse, P.; Taylor, G.; Carroll, B.; Berding, N.; Burner, D. y McIntery, C. L. Assessing genetic diversity in a sugarcane germplasm collection using an automated AFLP analysis. *Genética*, 1998, vol. 104, p. 143-153.
23. Cordeiro, G. Molecular marker systems for sugarcane germplasm analysis. En: *Plant Genotyping: The DNA fingerprinting of plants* Wallingford: CAB International, 2001.
24. Canales, E.; Cornide, M. T.; Rodríguez, M.; Coto, O. y Leonard, H. Mapeo de marcadores moleculares en la progenie de variedades cubanas de caña de azúcar: C 323-68 x Ja 60-5. 2002. Determinación de marcadores asociados a componentes del rendimiento en etapa temprana del esquema de selección. Informe parcial de proyecto CITMA, 2003.

25. Gallacher, D. J. Optimized descriptors recommended for Australian sugarcane germplasm (*Saccharum* spp. hybrid). *Aust. J. Agric. Res.*, 1997, vol. 48, p. 775-779.
26. Haanstra, J. P. W.; Wye, C.; Verbakel, H.; Meijer-Dekens, E.; van de Berg, P.; Odinet, P. van Exuden, A. W.; Tanksley, S.; Lindhout, P. y Peleman, J. An integrated high density RFLP-AFLP map of tomato based on two *Lycopersicon esculentum* x *L. pennellii* F-2 populations. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, vol. 99, p. 254-271.
27. Hartl, L.; Mholer, V.; Zeller, E. J.; Hsam, S. L. K. y Schweiser, G. Identification of AFLP markers closely linked to the powdery mildew resistance genes Pm1c and Pm4a in common wheat (*Triticum aestivum*). *Genome*, 1999, vol. 42, p. 322-329.
28. Hoarau, Y. J.; Offmann, B.; D'Hont, A.; Risterucci, A. M.; Roques, D.; Glaszmann, J. C. y Grivet, L. Genetic dissection of a modern sugarcane cultivar (*Saccharum* spp.). I. Genome mapping with AFLP markers. *Theor Appl. Genet.*, 2001, vol. 103, p. 84-97.
29. Xu, M. L.; Melchinger, A. E.; Xia, X. C. y Lubberstedt, T. High-resolution mapping of loci conferring resistance to sugarcane mosaic virus in maize using RFLP, SSR and AFLP markers. *Molecular and General Genetics*, 1999, vol. 261, p. 574-581.

Recibido: 8 de diciembre 2003

Aceptado: 25 de marzo de 2005

Cursos de Verano

Precio: 320 CUC

Biología de la productividad de las plantas
en condiciones de estrés abiótico

Coordinador: Dra.C. Inés Reynaldo Escobar

Fecha: julio

Duración: 40 horas

SOLICITAR INFORMACIÓN

Dr.C. Walfredo Torres de la Noval
Dirección de Educación, Servicios Informativos
y Relaciones Públicas
Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA)
Gaveta Postal 1, San José de las Lajas,
La Habana, Cuba. CP 32700
Telef: (53) (64) 86-3773
Fax: (53) (64) 86-3867
E.mail: posgrado@inca.edu.cu