

Las plantas transgénicas resistentes al herbicida, así como las plantas no transformadas ($n = 40$) fueron adaptadas a las condiciones de campo. Finalmente, se seleccionaron 112 individuos altamente resistentes a BASTA, los cuales procedían de 59 callos transformados. Todas las plantas no transformadas murieron (Tabla 4).

La novedad de este trabajo radica en el establecimiento de una nueva metodología para la transformación de la caña de azúcar con una eficiencia mayor que la de los métodos físicos descritos, así

como la generación de plantas transgénicas resistentes al herbicida BASTA.

Tabla 4. Resistencia a BASTA en condiciones de campo.

Protocolo	Plantas evaluadas (Q)	Nivel 1 (S)	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4	Nivel 5	Resistencia (S/Q)x100
A	186	55	58	36	34	3	29,6
B	38	18	6	0	6	8	47,4
C	40	24	9	4	3	0	60,0
D	96	51	26	13	2	4	53,1
Control	40	0	0	0	0	40	0,0

Desarrollo de las aplicaciones de los marcadores moleculares en el mejoramiento de la caña de azúcar en Cuba

María T Cornide, Orlando Coto, Eduardo Canales, Antonio Sigarrosa, Jesús E Sánchez, Miguel Ramos Leal, Héctor Leonard Olivares, Florencio de Prada Esquivel, Ariel Arencibia, Dania Calvo, Gelasio Pérez Oramas, José M Mesa, Ernesto Fernández, Roberto Peña Urrutia

Dpto. de Biotecnología de las Plantas. Centro Nacional de Investigaciones Científicas. Ave 25 y 158, Cubanacán, AP 6990. Ciudad de La Habana. Cuba. Fax: (53-7) 33 0497; E-mail: blanca@biocnic.cneuro.edu.cu

Introducción

La caña de azúcar es un híbrido complejo de naturaleza autoploidice, apareamiento cromosómico bivalente con un sistema de reproducción preferentemente alógamo, y con capacidad de multiplicación vegetativa. El conocimiento y manejo de estas características determinan la eficiencia de los estudios genéticos y de los programas de mejoramiento. Se considera que las principales limitaciones del mejoramiento cañero tradicional, vía casi exclusiva de obtención de variedades nuevas, son las siguientes:

1. La estrecha base genética empleada con estos fines, tanto por la escasa representación de formas, como por la elevada consanguinidad entre los híbridos comerciales usados como progenitores.
2. La baja heredabilidad de los caracteres evaluados y el efecto de competencia en la población de posturas provenientes de semilla botánica durante la primera etapa del esquema, en la que se aplica la selección más rigurosa.
3. La elevada contribución del componente genotipo-ambiente en la varianza fenotípica total de los principales criterios de selección en las etapas clonales, lo que aumenta la duración del programa y obliga a la realización de ensayos replicados para localidades, cepas y épocas de siembra y cosecha.

Por estas razones, el empleo de los marcadores del polimorfismo del ácido desoxirribonucleico o marcadores moleculares (MM), junto a los métodos tradicionales de mejoramiento, constituye una vía poderosa para acelerar el conocimiento genético y aumentar la eficiencia del mejoramiento en la caña de azúcar.

El presente trabajo abarca un conjunto de resultados teórico-prácticos que permiten identificar y elegir con más eficiencia la variabilidad genética para la obtención de nuevas variedades, y para la aplicación de esta tecnología de gran impacto, estandarizada para cuatro sistemas de MM (RFLP, AFLP, RAMP y RAPD), en la

búsqueda de marcadores para la selección en la caña de azúcar y en otros cultivos de interés. Las investigaciones se realizaron en el marco de un proyecto CITMA del PNCT de Biotecnología Agrícola y de un proyecto CNIC financiado por el Consejo de Estado (1996-1998).

Caracterización molecular de materiales de interés en el mejoramiento

Caracterización del germoplasma básico utilizado en el mejoramiento de la caña

De los 15 clones ancestrales de mayor participación en la genealogía de las variedades cubanas, ocho son también germoplasma básico de los programas de mejoramiento de la Florida y Louisiana [1] y, al igual que en estos casos, los clones de *S. officinarum* de mayor participación son: Black Cheribon, Chunnee, Bandjarmasin Hitam, Loethers, Lahaina y Fiji.

Por primera vez en Cuba se estudió la diversidad genómica (por RFLP) de 27 clones de fundación de las variedades modernas de la caña de azúcar (*S. officinarum*, *S. spontaneum*, *S. robustum*, *S. barberi*, *S. sinense* y *Erianthus* spp.), que están entre los más usados como germoplasma básico en el programa de nobilizaciones [2].

Las combinaciones de RFLP mediante el empleo de sondas heterólogas de maíz, resultaron de utilidad en la identificación de materiales de caña de azúcar con diferente grado de relación y complejidad genéticas, lo que confirmó resultados previos sobre la sintenia entre estas especies. Se reportaron diez bandas raras con presencia preferente o exclusiva en algunos clones de *Erianthus* spp. (B7, E13, H9), *S. spontaneum* (C2, C9, EC3); *S. officinarum* (EC8, EC9, H4) y *S. robustum* (EC7) de futura utilidad en trabajos de clasificación taxonómica. Se encontró una banda común sólo presente en los clones de *S. robustum* y *S. officinarum*

1. Deren GW. Genetic Base of U.S. Mainland Sugarcane. *Crop Sci* 1995;35: 1195-9.

2. de Prada F. Estudio y utilización de los recursos genéticos de la caña de azúcar. Tesis en Opción del Grado de Dr. en Ciencias Agrícolas. La Habana: MES; 1997.

(C14). No se encontraron bandas exclusivas de los clones de estas especies, ni en los clones de *S. barberi* o *S. sinense* que pudieran apoyar el probable origen secundario de estas últimas. Por esta razón, la diversidad común entre especies, revelada por los RFLP del trabajo, tiene un origen más amplio. Los miembros de *Erianthus* spp. pueden ser identificados con el uso de las bandas: B7 (UMC81-BamHI, 4,4 kpb); H9 (UMC39-HindIII, 2,9 kpb) y H13 (UMC81-EcoRI, 3,4 kpb) [3]. Se desarrolló una metodología para el procesamiento de la información con vistas a la determinación de los fondos genéticos.

Se demostró la mayor diversidad de los clones *S. spontaneum* en relación con las de otras especies. Se encontraron dos genofondos en los clones de *S. spontaneum* y 3 subgrupos en los de *S. officinarum*, lo que aumenta la eficiencia de la elección de este material como progenitores masculinos y femeninos para la nubilización. Quedó demostrada la superioridad de la caracterización integral con la incorporación de la diversidad genómica (RFLP) para la recomendación de formas originales, la cual resulta difícil y poco confiable por métodos tradicionales cuando se realiza sólo.

Caracterización de nuevas formas originales

La reducida representación de formas originales limita la eficiencia del avance generacional para obtener nuevos progenitores en la caña de azúcar, en especial en Cuba. Para ampliar la colección de formas originales, y con esto la eficiencia del programa de avance generacional para obtener nuevos progenitores en la caña de azúcar, se caracterizaron por RFLP 35 clones nuevos (8 de *Miscanthus* spp. y 27 de *S. spontaneum*) colectados en Laos junto a clones de *S. spontaneum* y *S. officinarum* representativos de los genofondos identificados en el material de fundación. Se evidenció la presencia de tres genofondos nuevos de *S. spontaneum* no coincidentes con los del trabajo anterior, lo que demuestra la eficiencia de la colecta efectuada. Esto permitió ampliar la variabilidad de partida de nuestro mejoramiento cañero con mayor precisión y rapidez. No se detectaron duplicados [4]. Los clones clasificados como *Miscanthus* spp. están en estudio con la utilización de sondas específicas del género para corroborar su clasificación taxonómica.

Caracterización de híbridos comerciales

Por primera vez, 45 híbridos y somaclones comerciales cubanos fueron caracterizados por su diversidad genómica (35 combinaciones de RFLP y 18 de RAPD) y fenotípica (5 caracteres), lo que apoya su elección como progenitores [5, 6]. Estos resultados permiten auxiliar la elección de estos clones con la incorporación de la diversidad de su genofondo al análisis tradicional, basado sólo en caracteres fenotípicos para aumentar las posibilidades de obtener genotipos transgresivos.

Se evaluó la diversidad genética de 11 clones del programa de selección recurrente de madurez temprana, provenientes de cinco cruces biparentales y dos policruces, y escogidos por su comportamiento azucarero promisorio en relación con sus progenitores y con un grupo de variedades testigos. Se utilizaron sondas genómicas de caña de azúcar (SSCIR) previamente escogidas por su alto polimorfismo y por su calidad autorradiográfica. Los estimados de las distancias en-

tre cada par de clones permitieron conocer, de forma preliminar, la efectividad de esta etapa del programa.

Para su identificación, se escogieron 15 bandas polimórficas de SSCIR194-BamHI. Los RFLP diferenciales hacen posible una rápida elección de las combinaciones enzima-sonda (CES) que se emplearán en los análisis de las progenies con fines de mapeo futuro.

Desarrollo del uso de MM como descriptores

En los últimos años ha habido un uso creciente de los MM en la conservación de recursos fitogenéticos, la cual se espera que aumente y se diversifique en apoyo a la protección legal internacional de nuevos productos biotecnológicos.

Los resultados de los autores demostraron la posibilidad de emplear los patrones de polimorfismo de los MM como descriptores moleculares en la identificación de los materiales estudiados, teniendo en cuenta su reproducibilidad, la facilidad de evaluación, el nivel de polimorfismo, el costo y la representatividad de las bandas, esta última expresada por su asociación con genofondos, categorías taxonómicas o características de interés en el mejoramiento.

Los descriptores propuestos se incorporaron a la base de datos del banco de germoplasma de la EPICA, en Camagüey, y está aprobada su inclusión en la nueva versión del sistema automatizado del banco de germoplasma de caña de azúcar (BANCOGER). Con la realización de esta propuesta, se inició en el país el uso de descriptores moleculares en la actividad conservacionista de los recursos fitogenéticos.

Se dispone de los patrones de polimorfismo molecular (RFLP, AFLP, RAMP) recomendados en los estudios de diversidad, organizados en cinco secciones: clones de fundación del complejo *Saccharum* (27); nuevos clones de la expedición Cuba-Laos (35); híbridos comerciales cubanos de interés en el mejoramiento (41); clones promisorios del programa de recurrencia de la madurez temprana (11); y somaclones comerciales y clones transgénicos promisorios (8). Los patrones que se van a emplear pueden ser seleccionados directamente por cualquier usuario. En el mundo la metodología garantiza una alta confiabilidad al facilitar la elección por el usuario de las bandas con mayor valor discriminatorio, las cuales diferencian subgrupos o fondos genómicos de los clones de la Sección, y de las bandas raras o únicas que identifican los clones dentro de cada subgrupo.

Diversidad genética. Predicción del comportamiento familiar. Aplicación del BLUP

En la caña de azúcar se ha demostrado la eficiencia de la selección familiar y del valor predictivo del potencial de una familia expresado a través de las medias de los caracteres más importantes en la etapa de posturas. Su estimación se realiza en costosos estudios de progenies que evalúan un número reducido de progenitores; por lo tanto, un método predictivo de las medias familiares basado en las características parentales, facilitaría la realización de la selección familiar.

Se compararon tres indicadores de diversidad entre los progenitores (distancia genealógica, DG; distancia multivariada, DI; distancia genómica por RFLP, DP) por su valor predictivo de las medias familiares, con cinco indicadores basados en estudios de progenies para el brix

3. Coto O, Cornide MT, Perez G, Canales E, Ramos Leal M, Leonard H. Diversidad molecular (RFLP) de clones de *Saccharum* spp. de interés para el mejoramiento cañero. Rev CENIC. Ciencias Biológicas 1999;30:194-208.

4. Cornide MT, Coto O, Canales E, Sagarroa A, Ramos M, Leonard H, et al. Estudio de indicadores de la variabilidad genética mediante RFLP en la caña de azúcar. Rev CENIC. Ciencias Biológicas 1996;27:8-12.

5. Canales E, Cornide MT, Calvo D, Gálvez G, Ramos Leal M, Coto O. Molecular diversity in a group of sugarcane varieties. Proceedings of the 23th ISSCT Congress; 1999 Feb 22-26; Nueva Delhi, India; 1999 (en prensa).

6. Cornide MT, Sánchez JE, Leonard H, Gálvez G, Canales E, Mesa J. Genetic diversity among a group of Cuban sugarcane varieties and its relationship to family performance. Proceedings of the 23th ISSCT Congress; 1999 Feb 22-26; Nueva Delhi, India; 1999.

y los componentes del peso del tallo en una etapa temprana del esquema de selección [7]. El estudio se realizó en cruces factoriales de diez progenitores cubanos importantes. Se introdujo el método del mejor predictor lineal insesgado (BLUP) para potenciar el uso de las distancias en la estimación de las medias familiares. Para ello, los autores modificaron el modelo de Bernardo [8] según cinco variantes de la matriz de varianza-covarianza.

Se demostró:

- La utilidad de emplear el polimorfismo molecular revelado por RFLP para evaluar la verdadera diversidad genómica entre dos genotipos de caña de azúcar, independientemente de su origen idéntico por descendencia o similar en estado, en relación con el coeficiente de coancestría y la distancia fenotípica.
- Que las distancias basadas en RFLP realizados con sondas de asociación desconocida con los caracteres de interés, escogidas por su distribución genómica, y por lo tanto, que expresan la diversidad general, tienen un valor práctico limitado para predecir las medias familiares de la altura y los componentes del peso del tallo en las etapas de posturas (planta y retoño) y clonal (planta y dos retoños).
- Que el método del mejor predictor lineal insesgado (BLUP), mediante la utilización del modelo de matriz de varianza-covarianza propuesto por los autores, mejoró la asociación de los estimados de diversidad parental con las medias familiares.

Estudios metodológicos

Se realizó un conjunto de estudios para perfeccionar la representación gráfica de la diversidad de MM para determinar fondos genómicos en la caña de azúcar. Se reportó la presencia y magnitud del sesgo de los estimados de distancias debido a variantes RFLP comunes entre genotipos no emparentados (d_{AB}). Sin embargo, la sobreestimación de los estimados de similitud genética por este sesgo en los materiales caracterizados, no resultó importante en la determinación de los genofondos. Esto se debe a que la resolución de los análisis multivariados en la determinación gráfica de los genofondos de RFLP, dependió de la unidad de polimorfismo considerada (bandas individuales o patrones de bandas de cada CES) y no de la fuente de sesgo anterior o de la presencia de variantes parcialmente correlacionadas entre diferentes CES revelados con una misma sonda. A estos efectos se recomienda considerar como variantes las bandas polimórficas individuales reveladas de las CES previamente seleccionadas por su alto polimorfismo y su facilidad de conteo. La confiabilidad de la determinación de los genofondos por la metodología propuesta por los autores, fue confirmada al mantenerse el agrupamiento de clones por los métodos multivariados más usados.

Estudios genético-estadísticos y paquete especializado de programas computarizados de apoyo

Se diseñó y validó un paquete de programas (MAT-GEN) (Registro 02707-2707) para la determinación de las relaciones entre genotipos con variantes binarias por 17 indicadores de asociación de tres tipos de ponderación [9]. Este paquete facilita los estudios de diversidad molecular, al agrupar las operaciones más frecuentes que el usuario realiza. Como novedad, se brinda la opción de

determinar y corregir el sesgo por variantes comunes entre individuos no emparentados, mediante tres tipos de indicadores y la comparación de los estimados de asociación mediante la técnica de Jackknife, de gran utilidad especial en estudios de poliploides.

Se confeccionó un software para el mapeo en poliploides (POLIMAP), validado con datos de caña de azúcar procedentes del CNIC [10]. Los mapas permiten la búsqueda de MM para la selección en la caña y en otros cultivos tropicales. Los autores calcularon las proporciones de segregación y desarrollaron las fórmulas de estimación para determinar: la dosis del marcador en alopoliploides y autopoliploides sin doble reducción ($2x-16x$); las relaciones de ligamiento y su configuración (método de dos puntos) con fragmentos de 1-3 dosis; las autofecundaciones no controladas; el tipo y nivel de ploidía (2 métodos); y la fracción de recombinación de las 11 configuraciones más informativas.

Agradecimientos

Los autores hacen constar la valiosa participación del Ing. Julio Vallina, los doctores Rolando González y Antonio China, la Ing. Ibis Jorge, investigadores del Instituto Nacional de Investigaciones de la Caña de Azúcar (INICA), el Lic. Guillermo Selman Housein, investigador del Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Aleida Veitía y Rusbel Michel, técnicos del CNIC, y Belkis Pino, técnica del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA).

Además, los autores agradecen a los doctores Guillermo Gálvez Rodríguez, Roberto de Armas y Rodobaldo H. Ortíz los criterios especializados brindados durante la proyección y ejecución de estos trabajos, y a los licenciados Dannelle Echemendía y Rafael Fando el apoyo brindado en el trabajo de laboratorio.

Bibliografía

- Arencibia A, Carmona E, Cornide MT, Wang G, Castiglione S, Cuzzoni E, *et al.* Field performance end genome analysis of resistant transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.) plants. *Transgenic Research*.
 Arcencibia A. Transformación directa de la caña de azúcar (*Saccharum* spp.) mediante electroporación de células intactas. Producción de plantas resistentes al ataque del bórer (*Diatraea saccharalis* Fab.). Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. La Habana: Universidad de La Habana; 1998.
 Canales E, Rizo D, Dinkova TD, Ramos Leal M. Mitochondrial DNA variation in sugarcane somaclones induced by tissue culture. En: Gavilondo JV, Luaces LL, Moya G, Pedraza A, Castro FO, Castro VA, editores. *Advances in Modern Biotechnology*. Vol. 1. 1992 Jun 8-12; La Habana, Cuba. La Habana: *Elfos Scientiae*; 1992. p.14.10.
 Canales E, Ramos Leal M, Maribona R. Caracterización del ADN mitocondrial de la caña de azúcar. *Rev CENIC, Ciencias Biológicas* 1992;23:46-8.
 Canales E, Cornide MT, Calvo D, Gálvez G, Ramos Leal M, Coto O. Molecular diversity in a group of sugarcane varieties. *Proceedings of the 23th ISSCT Congress*; 1999 Feb 22-26; Nueva Delhi, India.
 Cornide MT, Coto O, Canales E, Sigarroa A, Ramos M, Leonard H, *et al.* Estudio de indicadores de la variabilidad genética mediante RFLP en la caña de azúcar. *Rev CENIC, Ciencias Biológicas* 1996;27:8-12.

7. Cornide MT, Leonard H, Canales E, Mesa J, Calvo D, Ortíz R. Diversidad genética de un grupo de variedades de caña de azúcar y su valor predictivo del comportamiento familiar. *Cultivos Tropicales*. 1999a, en prensa.

8. Bernardo R. Relationships between single-cross performance and molecular marker heterozygosity. *Theor Appl Genet* 1992;83:628-34

9. Sigarroa A, Cornide MT. MAT-GEN: un sistema de programas para el cálculo de las relaciones genéticas en las plantas. *Rev CNIC, Ciencias Biológicas* 1996;27:6-7.

10. Cornide MT, Sánchez JE. Métodos genético-estadísticos para el mapeo de marcadores moleculares en especies vegetales poliploides (POLIMAP). *Reporte de Investigación*. ICIMAF; 1997. p.21.

Cornide MT, Coto O, Canales E. Tendencias del mejoramiento para la resistencia a las enfermedades y plagas en la presente década. *Centro agrícola* 1995;22:13-28.

Cornide MT, Leonard H, Canales E, Mesa J, Calvo D, Ortiz R. Diversidad genética de un grupo de variedades de caña de azúcar y su valor predictivo del comportamiento familiar. *Cultivos Tropicales*. año (de próxima aparición)

Cornide MT, Coto O, Canales E, Leonard H, Veitía A, Sigarroa A, *et al.* Estudio de indicadores de variabilidad genética mediante RFLP en la caña de azúcar. En: Estrada MP, Riego E, Limonta J, Téllez P, de la Fuente J, editores. *Avances en Biotecnología Moderna*. Vol 3; 1995 Nov 13-18; La Habana, Cuba. La Habana: Elfos Scientiae; 1995. p.II.47.

Cornide MT, Gálvez G. Los marcadores moleculares y el programa de mejoramiento de la caña de azúcar. En: Arencibia AD, Cornide MT, editores. *Biodiversidad y Biotecnología de la Caña de Azúcar*. La Habana: Elfos-Scientiae; 1999.

Cornide MT, Sánchez JE. Metodología genético-estadística para la determinación del dosage de marcadores moleculares en poliploides. *POLYMAP*. Reporte de Investigaciones. Centro de Matemática y Física Teórica. ICIMAF; 1997 Nov. ISSN 0138-89-16.

Cornide MT, Sánchez JE, Leonard H, Gálvez G, Canales E, Mesa J. Genetic diversity among a group of Cuban sugarcane varieties and its relationship to family performance. *Proceedings of the 23th ISSCT Congress*; 1999 Feb 22-26; Nueva Delhi, India.

Cornide MT, Sánchez JE, Coto O, León O. 1998. Uso de los Marcadores Moleculares en la Genética y Selección de las Plantas. *Fundamentos Teóricos*. Editorial del Centro Nacional de Investigaciones Científicas, La Habana junio 1998. 83 pp. (ISBN 959-252-003-8).

Cornide MT, Ramos M, Díaz Nuria. Un enfoque molecular en la caracterización y conservación de los recursos fitogenéticos. *Memorias Fitorrecursos de Cuba y su uso: 500 años después*. IPGRI; 1993.

Cornide MT, Leonard H. 1997. Los Marcadores Moleculares en el Mejoramiento de los Cultivos. *Proceedings of the First International Symposium on Nuclear and Related Techniques in Agriculture, Industry, Health and Environment NURT 1997*. Workshop on Applications of Radiation and Isotopes in the Agriculture; 1997 Oct 28-30; La Habana, Cuba; A-IT. p.24-6.

Cornide MT, Ramos M, Canales E, Coto O, Pérez G, Leonard H, *et al.* Empleo del RFLP en la caracterización y recomendación de clones de caña de azúcar para el mejoramiento cañero. 50 Aniversario de la Estación Experimental de la Caña de Azúcar de Jovellanos; 1997 Jun 23-24; EPICA, Matanzas, Cuba. (Comunicaciones cortas en soporte magnético).

Coto O, Cornide MT, Pérez G, Canales E, Ramos Leal M, Leonard H. Diversidad molecular (RFLP) de clones de *Saccharum spp.* de interés para el mejoramiento cañero. *Rev CENIC, Ciencias Biológicas* 1998;30:194-208.

Coto O. Caracterización de un grupo de clones del complejo *Saccharum* y de germoplasma básico de interés para el mejoramiento cañero mediante RFLP. Tesis en opción al título de Maestro en Ciencias Biológicas. La Habana: Universidad de La Habana-CNIC; 1998.

Dinkova TD, Ramos Leal M, Canales E. Mitochondrial DNA variation in high sugar content somaclones. En: Gavilondo JV, Luaces LL, Moya G, Pedraza A,

Castro FO, Castro VA, editores. *Advances in Modern Biotechnology*. Vol. 1. 1992 Jun 8-12; La Habana, Cuba. La Habana: Elfos Scientiae; 1992. p.14.10.

Dinkova TD, Ramos Leal M, Maribona R. Obtención de una sonda ribosomal 5S de caña de azúcar. *Rev CENIC, Ciencias Biológicas* 1993;24:3-5.

Fernández E, Peteira B, García P, Leonard H, Cornide MT. Uso de RAPD para la determinación de la diversidad genómica en variedades de caña de azúcar. *Revista de Protección Vegetal*. 1999 (de próxima aparición).

Bernal N, Jorge I, González A, Alvarez M, Cornide MT, Vega A, *et al.* Sistemas para el control y uso de los recursos fitogenéticos en Cuba. *Memorias del 11no. Congreso ALAG*; 1994. p.549-50.

Ocaña F. Caracterización de un grupo de progenitores de caña de azúcar mediante RFLP. *Universidad de La Habana-CNIC*; 1998.

Ramos Leal M, Canales E, Dinkova TD, Veitía A. Reacción en cadena de la polimerasa para amplificar ADN con posible relación con la resistencia a la mancha de ojo. *Rev CENIC, Ciencias Biológicas* 1996;27:1-4.

Ramos Leal M, Maribona R, Ruiz A, Korneva S, Canales E, Dinkova TD, *et al.* Somaclonal variation as a source of eyespot disease resistance in sugarcane. *Plant Breeding* 1996;115:37-42.

Ramos Leal M, Dinkova TD, Quintero M. La metilación del ADN y su manifestación en las plantas. *Rev CENIC, Ciencias Biológicas* 1997;28:3-6.

Ramos Leal M. La enfermedad mancha de ojo de la caña de azúcar causada por *Drechslera sacchari*. Interacciones hospedante-toxina, selección y obtención de genotipos resistentes. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Biológicas; 1997.

Ruiz A, Ramos Leal M, Rodríguez M, Maribona R. A molecular mechanism for somaclonal resistance to eyespot disease of sugarcane. En: Gavilondo JV, Luaces LL, Moya G, Pedraza A, Castro FO, Castro VA, editores. *Advances in Modern Biotechnology*. Vol. 1. 1992 Jun 8-12; La Habana, Cuba. La Habana: Elfos Scientiae; 1992. p.14.14.

Sigarroa A, Cornide MT. MAT-GEN: un sistema de programas para el cálculo de las relaciones genéticas en las plantas. *Rev CENIC, Ciencias Biológicas* 1996;27:6-7.

Sigarroa A, Cornide MT. MAT-GEN. Versión manual del usuario. La Habana: Editorial CNIC; 1998.

Abreviaturas

AFLP: polimorfismo de la longitud de fragmentos amplificados (*Amplified Fragment Length Polymorphism*).

QTL: locus de carácter cuantitativo o región cromosómica, determinada por análisis de ligamiento, que contribuye a la expresión fenotípica de un carácter cuantitativo.

RAMP: polimorfismo de fragmentos amplificados al azar de microsátelites (*Random Amplified Microsatellite Polymorphism*)

RAPD: ADN polimórfico amplificado al azar (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

RFLP: polimorfismo de la longitud de fragmentos de restricción (*Restriction Fragment Length Polymorphism*).

SSCIR: colección de sondas genómicas de *S. spontaneum* del CIRAD.

UMC: colección de sondas genómicas de maíz de la *Universidad de Missouri, Columbia*.