ANÁLISIS DE LA COANCESTRÍA EN EL GERMOPLASMA UTILIZADO EN EL MEJORAMIENTO DE CEBADA EN URUGUAY

Castro, A.[1]

Recibido: 30/04/01 Aceptado: 18/10/01

RESUMEN

El estudio de la diversidad genética así como de las relaciones existentes entre el germoplasma en uso constituye un elemento esencial en el proceso de toma de decisiones dentro de un programa de mejoramiento. El coeficiente de coancestría (*f*), definido como la probabilidad de que dos alelos tomados al azar en dos individuos sean idénticos por descendencia, es la medida clásica de relación genética. En este trabajo se estudia la coancestría de 29 genotipos de cebada (líneas experimentales y variedades) representativos del germoplasma en uso en producción en Uruguay en los últimos 30 años, agrupándolas de acuerdo a este criterio. Como criterio adicional de agrupamiento se utilizó la coancestría que presentaron con respecto a 25 genotipos de importancia como fuentes de germoplasma o de calidad, que fueron detectados repetidamente en las genealogías estudiadas. La coancestría promedio calculada (*f* = 0,072 para el total; *f* = 0,080 eliminando los materiales sin pedigrí completo) fue intermedia si se la compara con los valores publicados a nivel mundial. El agrupamiento de materiales sobre la base de *f* mostró una clara asociación con la región de origen en los genotipos introducidos, mientras que los genotipos de origen nacional presentaron una mayor dispersión. La coancestría con ancestros de importancia como criterio de agrupamiento detectó diferentes asociaciones, explicadas en general por un reducido número de variedades ancestrales de gran importancia en el desarrollo del cultivo a nivel mundial (Hanna, Haisa, Prior). Las líneas claves en la conformación o separación de grupos fueron analizadas en cada caso, así como posibles asociaciones con parámetros de interés.

PALABRAS CLAVE: cebada, coancestría, diversidad genética, mejoramiento genético.

SUMMARY

COANCESTRY ANALYSIS OF THE GERMPLASM USED FOR BREEDING IN URUGUAY

The study of the genetic diversity and the relationships existing within the available germplasm constitute an essential element in the decision-making process in a plant breeding program. The coefficient of coancestry (*f*), defined as the probability of two random alleles within two individuals being identical by descent, is the classic measure of genetic diversity. In this study, the coancestries of twenty-nine barley genotypes (varieties and experimental lines), representative of the germplasm used by breeders in Uruguay, were analyzed and the genotypes grouped according to their values. A second clustering procedure was carried based on the parentage relationship with a set of twenty-five ancestors of importance as sources of variability or quality, frequently detected in the studied pedigrees. The average coancestry ((*f* = 0.072 for the whole group; *f* = 0.080 when genotypes with incomplete pedigree were discarded) was intermediate when compared with reported values from different regions. The clustering based on these values showed a strong association with region of origin in the introduced genotypes, whereas the genotypes of national origin had a wider dispersion. The use of the coancestry with the set of ancestors detected different clusters, mainly explained by a limited number of ancestors with worldwide importance (Hanna, Haisa, Prior). The key factors in the conformation of the different groups were studied, as well as potential relationships with traits of interest.

KEY WORDS: barley, coancestry, genetic diversity, plant breeding.

[1] Facultad de Agronomía. Estación Experimental Dr. Mario A. Cassinoni.
Paysandú. República Oriental del Uruguay. CP 60000.
Correo electrónico: Ariel.Castro@orst.edu

INTRODUCCIÓN

El mejoramiento genético puede definirse como un proceso de evolución dirigida actuando sobre la variabilidad genética presente en el germoplasma en uso. La selección de progenitores, un paso esencial para un mejoramiento genético eficaz, requiere de un conocimiento adecuado de la diversidad genética existente y las relaciones entre los genotipos particulares. Las fuentes de información acerca de dichas relaciones son en general de tres tipos: geográfica, de pedigrí y de características de la planta (Schut *et al.,* 1997). El primer tipo es especialmente útil en bancos de germoplasma o especies no cultivadas, mientras que los datos de pedigrí están limitados a programas de mejoramiento donde los datos respectivos están adecuadamente documentados. El tercer tipo, tanto se refiera a información morfológica, fisiológica, agronómica o genética, solo requiere disponibilidad del material en estudio.

El coeficiente de coancestría (*f*), introducido por Malecot (1948), es la medida clásica de relación genética. La coancestría entre dos individuos A y B es la probabilidad de que un alelo tomado al azar de A y un segundo alelo tomado al azar de B sean idénticos por descendencia, es decir sean copias del mismo alelo ancestral. Los supuestos utilizados en su cálculo son: a) todos los genotipos ancestrales (es decir aquellos de los que se carece de información genealógica) carecen de relación entre si, b) cada genotipo recibe la mitad de sus genes de cada padre. El supuesto a es de dudosa validez, en el sentido que es probable que exista cierta base genética común entre muchos ancestros originales. Por tanto es probable que el valor de la coancestría este subvaluado. Sin embargo, como señalan Gizlice *et al.,* (1993), el efecto real de esa subestimación es mínimo. En un estudio en soja, dichos autores estimaron con marcadores moleculares la relación entre ancestros sin parentesco conocido, e incorporaron esa medida en el calculo de las coancestrías. Las diferencias entre ambos resultados fueron mínimas. En lo que refiere al supuesto b, es evidente que el proceso de selección afecta las frecuencias alélicas: justamente de eso trata la selección. Paull *et al.,* (1998) utilizando marcadores moleculares encontraron que el ajuste a las frecuencias esperadas (1:1 en cruzas simples; 3:1 en retrocruzas, etc) variaba dependiendo en cierta medida del cruzamiento considerado. Cruzamientos entre materiales de similar adaptación se ajustaban en general a la distribución esperada, mientras que cuando el nivel de adaptación difería también era mayor el desequilibrio.

Una revisión somera de la literatura publicada muestra que más allá de sus limitaciones la coancestría ha sido un indicador ampliamente utilizado para el análisis de las relaciones entre genotipos en numerosas especies cultivadas como soja (Delannay *et al.,* 1983; Cox *et al.,* 1985; Gizlice *et al.,* 1993; Sneller, 1994), girasol (Cheres y Knapp, 1998), sorgo (Ahnert *et al.,* 1996), algodón (Van Esbroek *et al.,* 1999), trigo (Autrique *et al.,* 1996; Barret *et al.,* 1998; Paull *et al.,* 1998; Bertin *et al.,* 2001), arroz (Dilday, 1990; Cao and Orad, 1997), centeno (Coarce *et al.,* 1996), maíz (Smith *et al.,* 1990; Bernardo, 1993), avena (Souza y Sorrels., 1989). En cebada ha sido utilizado para el análisis del germoplasma norteamericano (Martín *et al.,* 1991; Tinker *et al.,* 1993) y europeo (Graner *et al.,* 1994; Manninen y Nissila, 1997; Russell *et al.,* 1997; Schut *et al.,* 1997; Casas *et al.,* 1998). Como señalan Cheres y Knapp (1998), el análisis de coancestría provee de una descripción más clara de las relaciones de parentesco entre genotipos que el clásico diagrama del pedigrí. Sobre la base de las relaciones que describe, es posible estudiar el impacto de distintas fuentes de germoplasma sobre la variabilidad en uso (Dilday, 1990; Delannay *et al.,* 1983 Gizlice *et al.,* 1996; Manninen y Nissila, 1997; Cheres y Knapp, 1998), detectar patrones en el uso de germoplasma, tanto geográficos (Sneller, 1994; Autrique *et al.,* 1996) como morfológicos (Sneller, 1994; Cao y Orad, 1997), o estudiar el impacto de fuentes particulares de genes de resistencia en la evaluación de la variabilidad (Paull *et al.,* 1998).

El uso de características individuales de los genotipos ha sido también utilizado en el estudio de relaciones genéticas, inicialmente utilizando caracterizaciones morfológicas (a modo de ejemplo ver Jain *et al.,* 1975), luego caracterizaciones bioquímicas en base a isoenzimas (Doebley, 1989). A partir de la década de los ochenta se han utilizado un numero creciente de marcadores moleculares como polimorfismos basados en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), en ADN amplificado al azar (RAPD), en microsatélites (SSR), y en fragmentos de restricción amplificados (AFLP). Estas herramientas de análisis directo del genotipo han abierto nuevas posibilidades al estudio de las relaciones genotípicas. El uso de marcadores moleculares permite, al menos en teoría, obviar las limitaciones impuestas por los supuestos del análisis de coancestría y la limitada variabilidad de las isoenzimas. Sin embargo no están exentos de limitaciones. En primer lugar la información puede referirse a regiones del genoma que no codifican, lo que limita la utilidad de la información. Los agrupamientos además son relativamente dependientes del número y tipo de marcador utilizado en el análisis, lo que puede conducir a distintos resultados según el grupo de datos que se utilice (Coarce *et al.,* 1996: Doldi *et al.,* 1997; Russell *et al.,* 1997; Bohn *et al.,* 1999).

El grado de coincidencia en los resultados entre distintos criterios de análisis de las relaciones genotípicas ha variado según la especie y el estudio considerado. Especies de fecundación cruzada como maíz han presentado buenas correlaciones entre estimaciones de la distancia genética (Messmer *et al.,* 1993; Smith *et al.,* 1997), mientras que en especies autofecundas como soja las correlaciones han sido variables dependiendo el criterio y el germoplasma utilizado (Doldi *et al.,* 1997; Prabhu *et al.,* 1997; Thompson *et al.,* 1998).

En el caso particular del cultivo de cebada (*Hordeum vulgare* L.) la variación genética disponible es la consecuencia de una serie de fuerzas evolutivas, frecuentemente contradictorias, que han modificado el pool genético. El consenso general, consistente con la evidencia disponible, es que la diversidad genética ha disminuido desde la domesticación, y que ese proceso se ha acentuado en las últimas décadas (Brown, 1992). Una de los principales factores que han colaborado en esa reducción han sido las limitaciones y restricciones impuestas por la industria en términos de calidad maltera (Wych y Rasmusson, 1983), lo que ha obligado a los mejoradores a enfatizar el uso de cruzamientos entre un grupo reducido de líneas de elite (Horsley *et al.,* 1995). Una consecuencia de ésto es el alto grado de emparentamiento observado entre los cultivares comerciales (Peeters, 1988; Eslick y Hockett,1975, citados por Wych y Rasmusson, 1983; Fishbeck, 1992; Horsley *et al.,* 1995). Esta reducida diversidad sin embargo, no ha sido aparentemente un obstáculo para el logro de avances sustantivos a escala mundial tanto en aspectos agronómicos como de calidad (Fishbeck, 1992; Horsley *et al.,* 1995; Rassmusson y Phillips, 1997).

Martín *et al.,* (1991) analizando la coancestría de 167 cultivares de primavera de América del Norte, encontraron que los 5 ancestros principales explicaron entre el 42% y el 62% del germoplasma utilizado, de acuerdo a la época y tipo de cultivar considerados. La distancia entre distintos tipos de cultivares (dos y seis hileras) decreció con el tiempo, mientras que la coancestría aumentó 180% dentro del grupo de dos hileras y 36% en el de seis hileras cuando se comparaban materiales antiguos y modernos. Los valores *f* en los materiales modernos se ubicaron entre 0,19 (dos hileras) y 0,12 (seis). En un análisis de 27 cultivares canadienses, Tinker *et al.,* (1993) obtuvieron un *f* promedio de 0,075, aunque el rango de observaciones fue muy amplio (0 - 0,92). Graner *et al.,* (1994) también detectaron emparentamiento dentro de grupos al analizar 21 cultivares europeos de invierno y 17 de primavera. Los valores de *f* fueron de 0,26 para las cebadas de primavera y 0,33 para las de invierno. Un estudio similar, incluyendo 27 materiales europeos y 4 norteamericanos (Schut *et al.,* 1997), obtuvo un *f* promedio de 0,132, que llegaba a 0,176 cuando se consideraba sólo el grupo europeo. En el caso de Finlandia, Manninen y Nissila (1997) calcularon una coancestría de 0,27 entre las variedades liberadas después de 1977, y una incidencia prácticamente constante de los principales ancestros en los cultivares liberados a lo largo del siglo. En España Casas *et al.,* (1998) obtuvieron menores valores de *f* (0,071) lo que refleja el origen diverso de los cultivares sembrados en el país. A modo de referencia es importante considerar que el valor estimado de *f* para una descendencia de medios hermanos es 0,25. En Uruguay, Luizzi y Castro (1992) estudiando el pedigrí de los materiales cultivados señalan que un grupo de 7 ancestros originales explica gran parte de la variabilidad genética en uso.

Los resultados de los análisis de diversidad no mostraron buena correlación con los análisis de coancestría (Schut *et al.,* 1997) a diferencia de lo observado en trigo duro (Autrique *et al.,* 1996) aunque las diferencias pueden deberse a un rango limitado de observaciones y de diversidad estudiada en el caso de cebada. De todos modos, Castro *et al.,* (1997) pudieron relacionar grupos de cebadas con adaptación agronómica diferencial a grupos de germoplasma distintos, y Horsley *et al.,* (1995) relacionaron el comportamiento maltero de grupos de variedades a su coancestría.

Los estudios de diversidad en base a marcadores moleculares determinan en términos generales un grado de mayor de relación entre los genotipos que los esperables en base a su coancestría (Tinker *et al.,* 1993; Hayes *et al.,* 1997; Graner *et al.,* 1994; Manninen y Nissila, 1997; Schut *et al.,* 1997; Casas *et al.,* 1998). Esto puede deberse a la capacidad de los marcadores de detectar similitudes entre ancestros no emparentados, que en el cálculo de *f* se estiman sin relación entre sí. Por otra parte es también posible que se esté confundiendo identidad por descendencia (lo que mide la coancestría) con identidad por estado, dos tipos de identidad que los marcadores no pueden diferenciar. La correlación entre ambas estimaciones ha sido en general baja, aunque significativa. Tinker *et al.,* (1993) encontraron una correlación de 0,51 entre las similitudes basadas en coancestrías y las basadas en RAPD. La correlación entre la estimación por RFLP y *f* en el estudio de Graner *et al.,* (1994) fue de 0,21 en las cebadas invernales y 0,42 en las primaverales. Estudiando una base genética similar y utilizando AFLP, Schut *et al.,* (1997) estimaron dicha correlación en 0,40. Comparando estimaciones en base a RFLP, AFLP, SSR y RAPD, Russell *et al.,* (1997) encontraron que el último tipo de marcador era el que proporcionaba agrupamientos más diferenciados y el que pre-

sentaba menor correlación con el resto. Manninen y Nissila (1997) fueron los que obtuvieron la menor correlación entre similitud basada en RFLP y *f* (0,14), mientras que los valores obtenidos por Casas *et al.,* (1998) fueron superiores (0,64). En general, en todos los trabajos las correlaciones aumentaron al considerarse grupos más relacionados de genotipos. También las diferencias fueron menos importantes al estudiar los agrupamientos de genotipos, que en general fueron relativamente similares entre sí. En Uruguay el agrupamiento de un grupo representativo de la colección nacional de cebada usando RAPD y características agronómicas reveló grupos similares de genotipos (Balbi *et al.,* 1994; Castro, 1999).

Como señalan Hayes *et al.,* (1997), cualquiera de estas medidas de la diversidad genética en cebada produce agrupamientos razonables del germoplasma, muchas veces complementarios entre sí. En ese contexto el estudio de la coancestría resulta una fuente de información útil para la toma de decisiones en un programa de mejoramiento de cebada. La relativa simplicidad y bajo costo de su determinación lo hacen aún más atractivo. En el presente trabajo se analiza la coancestría de un conjunto de variedades y líneas experimentales en uso en producción o mejoramiento en Uruguay, así como la relación que presentan con diversas fuentes de variabilidad genética. El objetivo es avanzar en el agrupamiento de genotipos de acuerdo a su similitud o emparentamiento así como estudiar en una etapa futura posibles asociaciones entre fuentes de germoplasma y variables de interés. El conocimiento de estas relaciones es de gran utilidad tanto para la planificación de cruzamientos amplios para maximización de la variabilidad, como para esquemas de introgresión de germoplasma exótico en los que se busque mantener la mayor similitud posible con el germoplasma de elite.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las coancestrías (*f*) de 29 variedades y líneas experimentales de cebada cervecera representativas del germoplasma en uso en producción y mejoramiento en Uruguay en los último 30 años fueron estimadas a partir del estudio de sus genealogías. Los datos genealógicos fueron obtenidos de descripciones de cultivares, registros de cada programa de mejoramiento, comunicación personal con los mejoradores, bases de datos disponibles en internet (GRIN: http://www.ars-grin.gov/npgs/; CPRO:http://www.cpro.dlo.nl/cgn/database/; y Nordic Gene Bank (NGB): http://tor.ngb.se/Databases/), y registros publicados (Baum et al., 1985; Arias et al., 1983; Fitzimmons y Wrigley, C.W., 1984; Luizzi y Castro, 1992). Para el cálculo de *f* se utilizaron los siguientes supuestos: a) los ancestros, cultivares y líneas experimentales fueron homocigotas y homogéneos; b) los ancestros con pedigrí desconocido no presentaban relación entre sí ($f = 0$); c) una línea derivada de un cruzamiento obtuvo una muestra equivalente de alelos de cada progenitor. Los cálculos fueron realizados utilizando el programa KIN versión 1.04 (Tinker y Mather, 1993; Tinker 1994).

La matriz de disimilitud genética ($d = 1 - f$) obtenida fue utilizada para el agrupamiento de materiales (Sneller, 1994; Cheres y Knapp, 1998), y los materiales fueron agrupados mediante el uso del método de agrupamiento de a pares no corregidos utilizando promedios aritméticos (UPMGA) mediante el programa NTSYS (James Rohlf, 1997).

Un segundo análisis se realizó a partir de las coancestrías de las 28 líneas (Union no fue incluída por incluirse en el grupo de ancestros) con 25 ancestros originales o de gran importancia en términos de calidad (Cuadro 1). Las disimilitudes genéticas estandarizadas fueron utilizadas para agrupar los materiales. El método utilizado fue el UPGMA a partir del cuadrado de la distancia euclidiana (de manera de maximizar la separación entre grupos distantes). Para analizar e interpretar los agrupamientos obtenidos se descompuso la matriz de covarianzas de dichas distancias en sus componentes principales utilizando el procedimiento PRINCOMP del paquete estadístico SAS 6.12 (SAS Inst.,1996). El uso de la matriz de covarianzas permitió mantener la escala original entre las variables utilizadas (disimilitud con ancestros). El resultado del análisis por componentes principales fue utilizado para depurar el set original de variedades utilizado (Johnson, 1998). Los resultados del análisis inicial no son presentados. Para interpretar la separación en grupos se determinó, usando la representación gráfica de los valores para cada individuo (biplots), los componentes que explican dicha separación. Dichos componentes a su vez fueron explicados en términos de variables originales (ancestros) utilizando sus vectores propios (eigenvectors): el ancestro o ancestros con mayor coeficiente en dicho vector explican el componente y la separación en grupos que dicho componente a su vez explica.

RESULTADOS

Análisis de las coancestrías

El dendrograma de las 29 líneas de acuerdo al valor de d (Figura 1) muestra en el agrupamiento de los genotipos una relativa coherencia con su origen. Los cinco genotipos originarios de North Dakota (Bowman, Logan, LCI 628, LCI 543 y NE 240) forman un grupo, y su primer asociación es con otra variedad de América del Norte (Morex). Algo

Cuadro 1. Vectores y raíces latentes de los 7 componentes principales de la matriz de covarianzas de las distancias genéticas del grupo reducido de variedades y líneas (sin Bonita ni Ana) con los ancestros utilizados en el análisis. Los valores en negrita corresponden a los mayores coeficientes, que se estima que explican en mayor proporción cada componente.

	Componente Principal						
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
Prior	0.269	**0.551**	-0.099	-0.166	0.180	0.105	-0.023
Hanna	**0.430**	0.283	0.300	-0.279	0.138	-0.281	0.169
Gull	0.059	0.046	0.021	**0.464**	0.056	0.275	-0.112
W.M.R I	0.203	-0.152	-0.054	-0.169	**0.419**	**0.337**	0.233
Bethge XIII	-0.267	0.062	**0.550**	0.084	0.122	0.239	0.268
Kneiffel	-0.242	0.044	**0.613**	-0.118	0.017	0.136	-0.081
Kwan	0.018	0.145	-0.058	0.121	-0.261	0.256	**-0.372**
Archer	0.072	0.098	-0.095	-0.228	**-0.435**	**0.405**	0.272
Plumage	0.037	0.200	-0.110	-0.129	**-0.330**	0.294	**0.311**
Ariana	0.035	-0.027	-0.147	0.283	**0.346**	0.297	**0.473**
Kenia	0.257	0.212	0.206	0.339	-0.133	0.043	-0.183
Haisa	**0.431**	-0.114	0.152	-0.015	0.053	-0.136	0.208
Isaria	0.304	**-0.384**	0.024	0.233	-0.147	-0.076	0.146
Aurore	0.257	0.212	0.206	**0.339**	-0.133	0.043	-0.183
Union	0.272	**-0.409**	0.178	**-0.334**	-0.193	**0.319**	-0.151
Raíz latente (RL)	**0.392**	**0.201**	**0.146**	**0.079**	**0.057**	**0.039**	0.025
R.L. acumulada	**0.392**	**0.593**	**0.739**	**0.818**	**0.875**	**0.915**	0.940

similar ocurre con los genotipos europeos (Ariel, Clivia, Perun, Defra, Aphrodite, Union, Cheri, Berolina) y australianos (Clipper, Stirling). Los genotipos de programas uruguayos (líneas FNC, CLE y EEMAC) en cambio, tienden a agruparse con genotipos del mismo origen que sus progenitores (o directamente con sus progenitores) y no a agruparse entre sí. La línea EEMAC C8730 (MN599/Stirling) es un ejemplo de esa situación.

Una referencia para interpretar el grado de emparentamiento es considerar que dos genotipos provenientes de la misma cruza (hermanos enteros) equivaldrían a un valor de *d* de 0,50. Defra y Perun por ejemplo, presentan un valor de 0,75, aún cuando la mitad del pedigrí de Perun es desconocido (lo que permite prever un valor real mayor). Ésta es una situación típica de las variedades europeas de alta calidad (Graner *et al*., 1994). El nivel general de emparentamiento entre los genotipos estudiados es intermedio (*f* = 0,072), aunque se debe considerar que se incluyeron materiales muy poco relacionados con el resto (Morex, un cultivar maltero norteamericano de seis hileras) o con genealogías incompletas (Perun). Si se excluyen esos materiales el promedio no varía demasiado (*f* = 0,080), y no resulta demasiado alto si se compara con los valores reportados en la bibliografía (Martín *et al*., 1991; Tinker *et al.,* 1993; Graner *et al*., 1994; Schut *et al*., 1997; Manninen y Nissila, 1997; Casas *et al*., 1998).

El patrón geográfico observado en el agrupamiento refleja la tendencia de cada programa y cada región en trabajar con una base relativamente reducida de materiales adaptados. La distribución de los materiales uruguayos en los distintos grupos muestra el esfuerzo de los programas nacionales de combinar esas distintas fuentes de germoplasma. Es también posible que esto refleje el nivel todavía relativamente embrionario del mejoramiento nacional y la ausencia de un claro modelo de adapatación incorporado al mejoramiento. El emparentamiento entre los genotipos incorporados a la evaluación nacional de cultivares, si bien es importante (*f* = 0,096), no impresiona demasiado cuando se lo compara con la situación internacional.

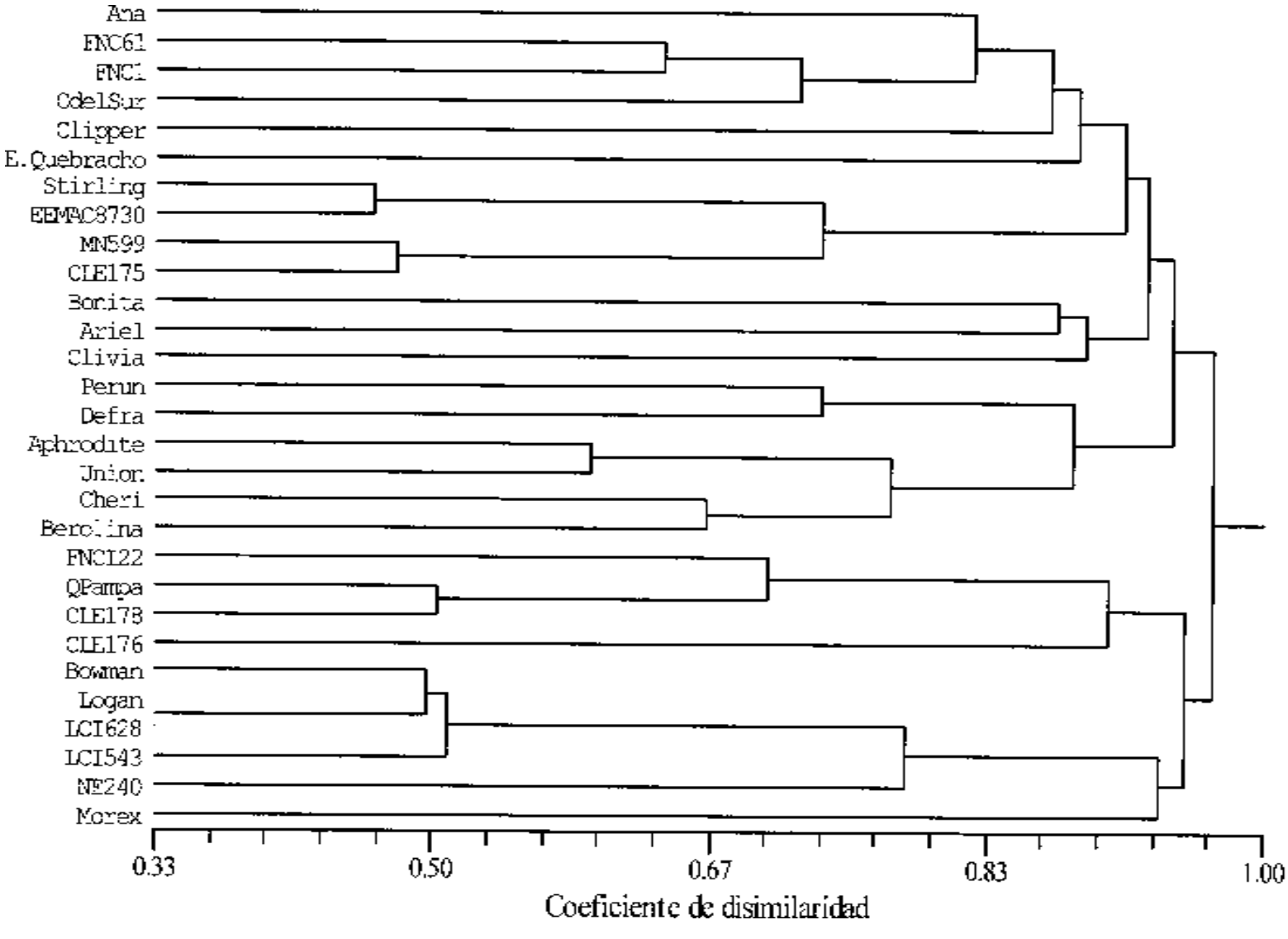

Figura 1. Dendrograma de agrupamiento de las 29 variedades analizadas, de acuerdo a sus valores de d entre sí.

Agrupamiento sobre la base de la relación con un grupo reducido de ancestros

El agrupamiento de acuerdo a los valores de *d* es una herramienta útil para visualizar las relaciones entre genotipos y podría ayudar en la planificación de posibles estrategias de cruzamiento. Sin embargo sólo agrupa de acuerdo a una coancestría general, sin dar elementos respecto a qué ancestros son los más importantes en la conformación de los grupos, o separar las líneas en relación a ancestros de importancia conocida. El estudio de los valores de *d* con un conjunto de fuentes de variación o de calidad repetidas en los diferentes pedigríes puede proveer de otra herramienta analítica y complementaria (Cheres y Knapp, 1998).

El análisis incluyó 25 ancestros y en base a los resultados obtenidos (no presentados) se realizó una depuración de ambos grupos (ancestros y germoplasma bajo estudio). Del grupo de ancestros se eliminó la línea Quinn y del grupo de variedades Ana y Bonita. Quinn explicaba una parte importante de la variación total analizada, pero sólo afectando la separación de Ana y Bonita del resto de los genotipos. La eliminación de estos genotipos y la repetición del estudio en el grupo reducido permitió establecer patrones más claros de agrupamiento de genotipos.

El agrupamiento de este grupo reducido (Figura 2) muestra un patrón distinto al observado en la Figura 1. Si bien en algunos casos la concentración por región de origen persiste (materiales de North Dakota y algunos europeos, por ejemplo), en general los agrupamientos formados no presentan en todos los casos una explicación intuitiva. De acuerdo a las distancias observadas, se estableció un valor de 2,25 para establecer los distintos grupos. Cinco grupos fueron formados de esa manera: uno de 17 genotipos, uno de cuatro, dos de dos y un último grupo compuesto por un genotipo. La separación en cada caso fue analizada de acuerdo a los valores de los componentes principales (Figura 3), interpretados de acuerdo a los valores de sus vectores (Cuadro 1). De acuerdo a las raíces latentes, los cuatro componentes principales representan un 82% de la variación analizada, por lo cual la interpretación fue basada en esos componentes.

La Figura 4 resume en forma simplificada los ancestros detectados como responsables principales de la separación entre grupos (los promedios grupales se presentan en el Cuadro 2). El grupo 5, el que incluye la mayor parte de las líneas estudiadas fue subdividido para facilitar el análisis. Un conjunto de variedades centroeuropeas antiguas (Hanna, Haisa Isaria y Weihenstephan Mehltauresistente I) son las que explican (por ausencia o presencia) los dos primeros nodos de separación. En el primer nodo se separa el grupo 1, compuesto por variedades europeas y el cultivar nacional FNC6-1. Este agrupamiento puede resultar extraño por las diferencias de origen, pero los cultivares europeos que lo componen han mostrado un comportamiento diferente al de otros cultivares de ese origen en evaluaciones nacionales (Castro *et al*., 1997). El segundo nodo separa a dos genotipos altamente emparentados (EEMAC C8730 y Stirling) del resto. La tradicional variedad australiana Prior explica el tercer nodo, donde se separa el grupo 3 (Clipper y Cruz del Sur), compuesto por materiales altamente emparentados con Prior del resto. El cuarto nodo, que separa los grupos 4 y 5, también se explica por Prior y Hanna. Resulta interesante que más allá del número importante de ancestros incluidos en el análisis, estas variedades de gran importancia en el desarrollo del cultivo a escala mundial son las que explican la parte más importante de la diversidad analizada en Uruguay. Estos resultados además confirman la importancia de dichos genotipos en el desarrollo del cultivo en el país como ya señalaban Luizzi y Castro (1992).

Algunos de los agrupamientos observados resultan relativamente inesperados, como el caso de Morex agrupada con materiales europeos. La causa de ésto es la falta de inclusión en el análisis de aquellos ancestros que las separan. Una alternativa era incluir todos los ancestros originales a nivel de variedad de campo o colecta original, lo cual evitaría esos problemas. Sin embargo originaría un dendrograma probablemente muy similar al presentado en la Figura 1, no aportando información complementaria. Además un número de ancestros muy alto podría dificultar la interpretación de resultados y podría explicar parte de las separaciones por ancestros sin mayor importancia. El criterio utilizado en este trabajo presenta la ventaja de agrupar a las líneas de acuerdo a ancestros previamente considerados de interés. Desde el punto de vista de la planificación de cruzamientos o del estudio de la variabilidad disponible parece más interesante poder agrupar el conjunto de líneas de acuerdo a la presencia o no, de determinadas fuentes de calidad en su genealogía (para citar un ejemplo) que separar a una línea del resto porque en su genealogía aparece un ancestro exclusivo. Tanto para combinar fuentes distantes, como para mantener equilibrios ya logrados, la segunda alternativa aparece con mayor potencialidad. Por otra parte, e independientemente de lo anterior, en la mayoría de los grupos considerados los ancestros incluidos explicaron una parte considerable de la coancestría total (Cuadro 2).

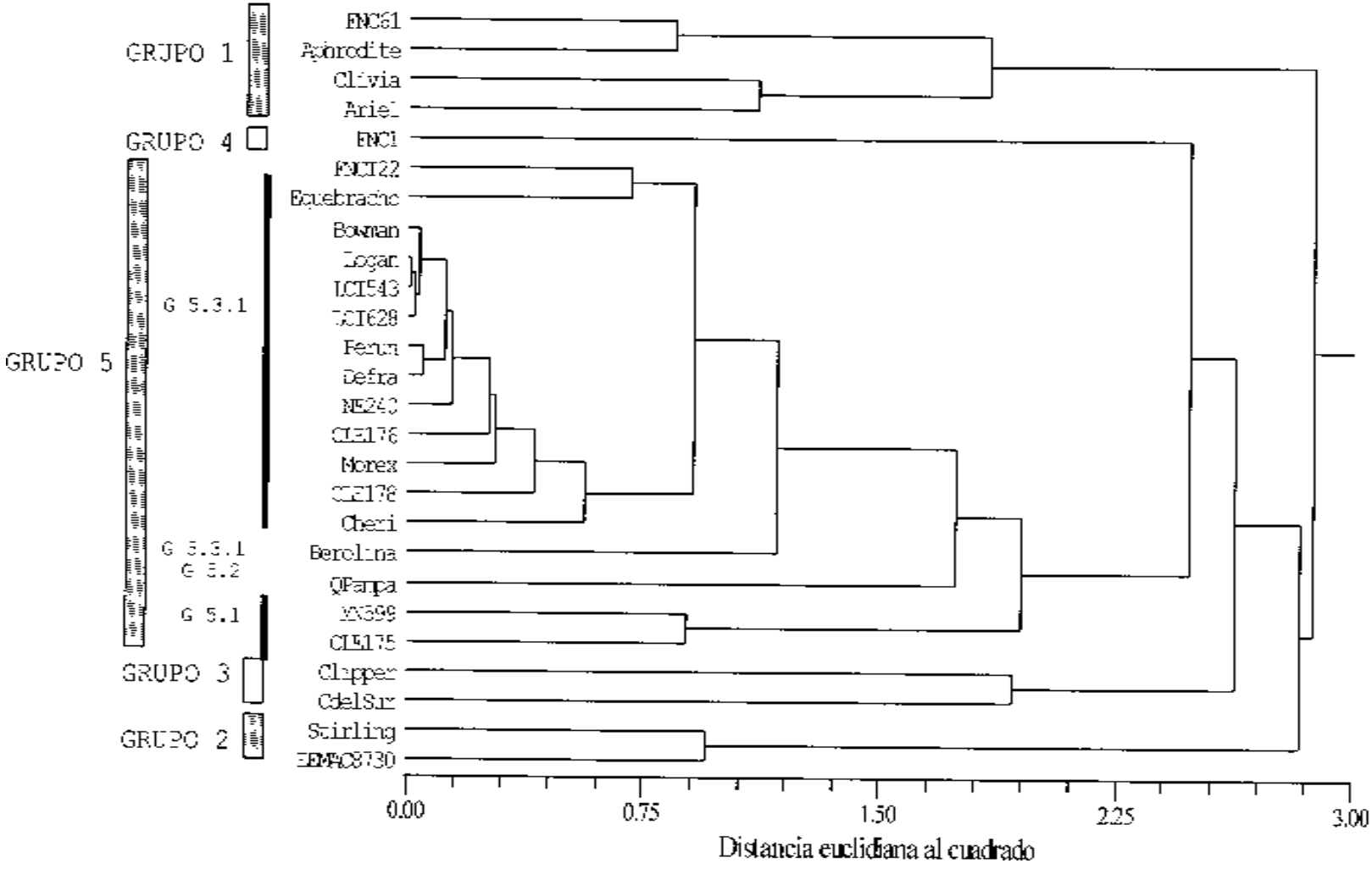

Figura 2. Dendrograma de agrupamiento de 26 variedades analizadas de acuerdo a sus valores de *d* con respecto al grupo reducido de ancestros (ver texto).

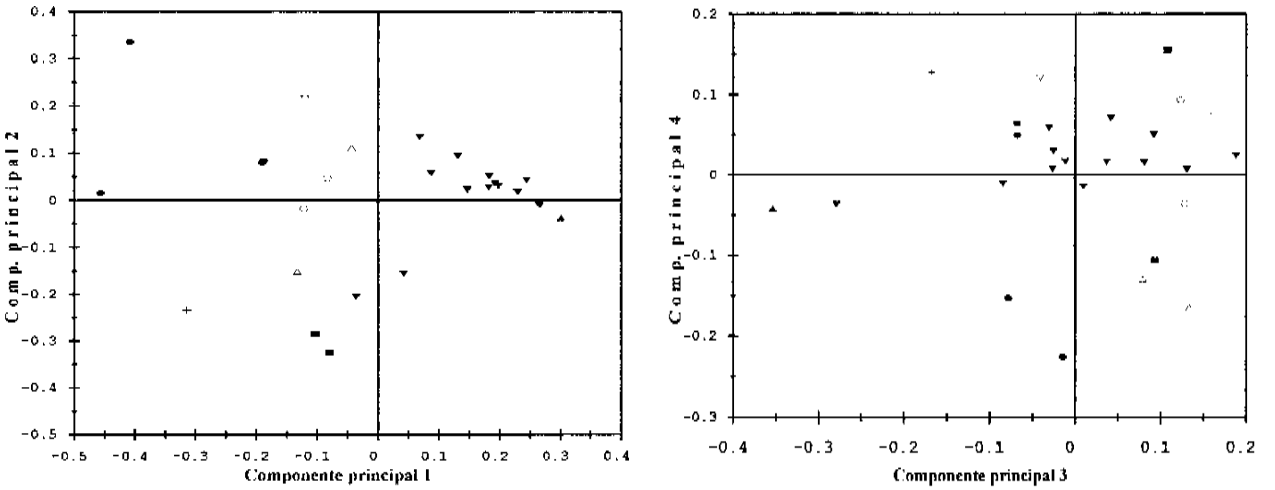

Figura 3. Biplot de los valores de los componentes principales de la matriz de covarianza, de las líneas incluidas en el análisis de coancestrías con el conjunto reducido de ancestros, agrupados de acuerdo a los grupos identificados en la figura 2: (▪) grupo 1, (o) grupo 2, (■) grupo 3, (+) grupo 4, ( ) grupo 5.1, (▲) grupo 5.2, (Ñ) grupo 5.3.1, (▼) grupo 5.3.2.

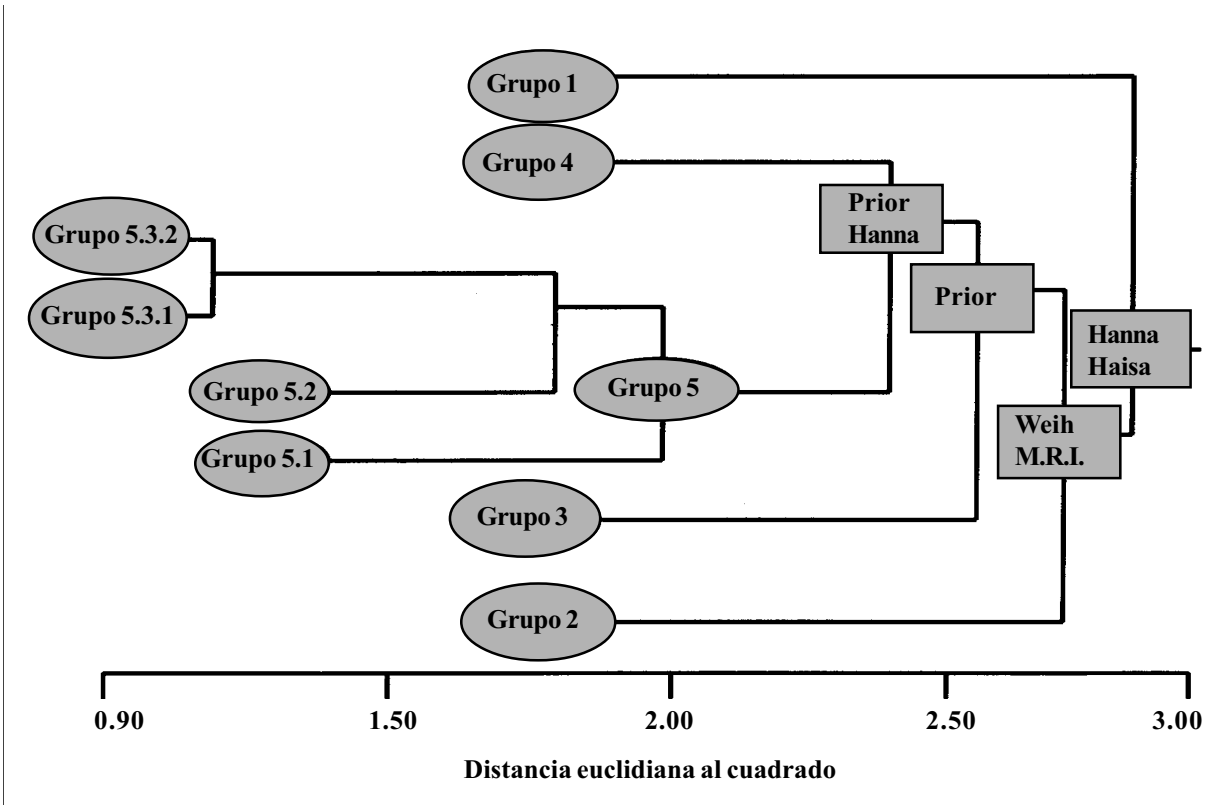

Figura 4. Dendrograma simplificado, indicando (de acuerdo a los valores de los vectores de los componentes principales, y el valor promedio para estos de los distintos grupos (ver figura 2)) los ancestros responsables de la separación entre grupos de genotipos.

Cuadro 2. Coancestría promedio de los grupos detectados en la figura 2 con los ancestros utilizados en el análisis de grupos. En negrita se destacan los ancestros estimados como determinantes de las separaciones entre grupos, en función a los componentes que separaban los grupos en la figura 3 y a las variables (ancestros) que a su vez determinan dichos componentes.

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
Prior	0.059	0.141	**0.250**	**0.234**	0.037
Hanna	**0.219**	0.112	0.188	**0.484**	0.078
Gull	0.083	0.079	0.063	0.000	0.052
W.M.R I	0.099	**0.211**	0.000	0.125	0.028
Bethge XIII	0.000	0.000	0.000	0.000	0.082
Kneiffel	0.031	0.000	0.000	0.125	0.117
Kwan	0.000	0.000	0.125	0.000	0.000
Archer	0.024	0.024	0.188	0.000	0.010
Plumage	0.000	0.024	0.188	0.000	0.000
Ariana	0.000	0.063	0.000	0.000	0.022
Kenia	0.198	0.095	0.188	0.242	0.072
Haisa	**0.280**	0.128	0.094	0.242	0.067
Isaria	0.255	0.081	0.000	0.000	0.041
Aurore	0.198	0.095	0.188	0.242	0.072
Union	0.210	0.107	**0.035**	0.138	0.089
f explicada[1]	**0.768**	**0.732**	**1.000**	**0.968**	**0.467**

[1] Proporción de la coancestría total (f = 1) explicada por los ancestros incluidos en el análisis.

DISCUSIÓN

La variabilidad genética disponible y las estrategias para su uso han sido parte del debate en el mejoramiento de cebada en Uruguay. El consenso existente indicaba que se estaba trabajando con una base relativamente estrecha y que debían elaborarse estrategias a mediano y largo plazo para superar lo que se visualizaba como una limitante para el desarrollo del cultivo (Luizzi y Castro, 1992). Los resultados de este estudio contradicen en parte ese concepto. En primer lugar, la coancestría promedio de los materiales incluidos en evaluación final en la última década (0,096) no aparece como excesiva en la comparación con otras regiones productoras del mundo. Los valores de 0,19 y 0,12 para cebadas de dos y seis hileras respectivamente, calculados por Martín *et al*., (1991) para todo EE.UU., resultan en comparación, sobre todo tomando en cuenta la amplitud de la región considerada, mucho más altos. Lo mismo ocurre con los distintos trabajos que analizan la coancestría de los genotipos europeos.

Es probable que el grado relativamente bajo de emparentamiento de los genotipos utilizados en Uruguay se relacione más con la historia reciente del mejoramiento de cebada en el país que con una preocupación por la ampliación de la diversidad genética utilizada. Es importante recordar que el mejoramiento de cebada en Uruguay tomó impulso recién en la década de los ochenta, en base a un fuerte desarrollo de la industria. El conjunto de genotipos utilizados en producción refleja el intenso esfuerzo de introducción de material genético realizado por todos los programas de mejoramiento nacionales. La ausencia de un modelo claro de adaptación en el que basar la selección, al menos hasta fechas relativamente recientes (Castro y Kemanian, 1999) y la falta de criterios estandarizados sobre perfiles de calidad, ha hecho que se careciera de objetivos bien definidos en los que basar la

introducción de variabilidad. Las situaciones comparadas (EE.UU., Canadá, Europa) refieren en cambio, a una larga historia de mejoramiento en la que los tipos de planta adaptados y el perfil de calidad maltera requerido por la industria están muy bien definidos desde hace varias décadas. En ese tipo de situaciones la mayoría de los cruzamientos (y por consecuencia la mayoría de los nuevos genotipos) involucran mayormente material propio al cual se le intentan incorporar características específicas. En la medida que se continúe acumulando historia de mejoramiento en Uruguay, es muy probable que se comience a detectar un mayor filtrado de las introducciones que llegan a evaluación final, así como una mayor incidencia de materiales nacionales en la genealogía de los nuevos genotipos. En esas condiciones es esperable que aumente el nivel de emparentamiento entre éstos.

El agrupamiento en función de ancestros clave debe ser considerado como un resultado intermedio, que debe ser necesariamente complementado con la incorporación de evaluaciones fenotípicas de modo de establecer la existencia o no de relación entre estos agrupamientos y el nivel de calidad maltera. Resulta de todos modos llamativo observar la concentración en el grupo 5, y más particularmente en el grupo 5.3 de un conjunto de genotipos de origen muy variado caracterizado en general por poseer muy buena calidad maltera (Ing. Qco. H. Acevedo, LATU, com. pers.). La comparación con la Figura 1 demuestra que el grado de emparentamiento entre estos cultivares no es muy alto (f = 0,080 para el grupo 5, y f = 0,088 para el grupo 5.3), lo que abre la interrogante acerca de cuál puede haber sido el impacto de alguno de estos ancestros en la determinación de esos niveles de calidad. Por otra parte, el grupo 5 es el que presenta una menor proporción de variación total explicada por estos ancestros (0,467), lo que puede estar indicando que justamente los ancestros no incluidos son los que explican esa mayor calidad. En todo caso resulta evidente la necesidad de continuar profundizando el análisis de manera de responder a esas y otras preguntas. La incorporación futura de información de calidad maltera, en caso de ser posible, puede significar un avance en esa dirección. El único análisis de agrupamiento en base a resultados de análisis de calidad (Castro y Ernst, 1995), que incluye alguno de los genotipos analizados en este trabajo, muestra algunas similitudes con el agrupamiento de la Figura 2, pero se requiere más información (se trató de datos de un solo año cuya precisión no fue buena) para establecer conclusiones al respecto.

Este trabajo constituye una primera aproximación al análisis de este tema, y por tanto sus resultados deben considerarse hasta cierto punto como preliminares. Nuevos trabajos que continúen el estudio e incluyendo variables agronómicas y de calidad están en etapa de elaboración.

AGRADECIMIENTOS

El autor desea agradecer especialmente a los Drs. Gerardo Arias (EMBRAPA, Brasil), Jerome Franckowiak (NDSU, USA), Silvia Germán (INIA, Uruguay), Brian Harvey (Univ. of Saskatchewan), William Legge (Agr.Canada) y al Ing. Agr. Federico Condón (INIA, Uruguay) por la información aportada, sin la cual este trabajo no podría haberse realizado. También desea agradecer al Departamento de Crop and Soil Science de la Oregon State University por el uso de su equipamiento informático y a dos revisores anónimos por las correcciones y sugerencias que mejoraron sensiblemente este manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

AHNERT, D.; LEE, M.; AUSTIN, D.F.; LIVINI, C.; WOODMAN, W.L.; OPENSHAW, S.J.; SMITH, J.S.C.; PORTER , K. and DALTON, G. 1996. Genetic diversity among elite sorghum inbred lines assessed with DNA markers and pedigree information. Crop Science 36: 1385-1392.

ARIAS, G.; REINER, L.; PENGER, A. and MANGSTL, A. 1983. Directory of barley cultivars and lines. Verlag Eugen, Stuttgart.

AUTRIQUE, E.; NACHIT, M.M.; MONNEVEUX, P.; TANKSLEY, S.D. and SORRELLS, M.E. 1996. Genetic diversity in durum wheat based on RFLPs, morphological traits, and coefficient of parentage. Crop Science 36: 735-742.

BALBI, M.; SILVEYRA, C. and TOJO, C. 1994. Caracterización de la colección nacional de cebada. Tesis de Ing. Agr., Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Montevideo.

BARRET, B.A.; KIDWELL, K.K. and FOX, P.N. 1998. Comparison of AFLP and pedigree-based genetic diversity assesment methods using cultivars from the Pacific Northwest. Crop Science 38: 1271-1278

BAUM, B.R.; BAILEY, L.G. and THOMPSON B.K. 1985. Barley register. Agric. Canada Publ. 1783B. Ottawa, Canada.

BERNARDO, R. 1993. Estimation of coefficient of coancestry using molecular markers in maize. Theor. Appl. Genet. 85: 1055-1062

BERTIN, P.; GRÉGOIRE, D.; MASSART, S. and DE FROIDMONT, D. 2001. Genetic diversity among European cultivated spelt revealed by microsatellites. Theor.Appl.Genet. 102: 148-156

BOHN, M.; UTZ, H.F. and MELCHINGER, A.E. 1999. Genetic similarities among winter wheat cultivars determined on the basis of RFLPs, AFLPs, and SSRs and their use for predicting progeny variance. Crop Science 39: 228-237.

BROWN, A.H.D. 1992. Genetic variation and resources inclutivated barley and wild *Hordeum.* p. 669-682. En: L. Munk (ed.) Barley Genetics VI, Vol II. Munsksgaard Intl. Publ. Ltd., Copenhagen.

CAO, D.; ORAD, J.H. 1997. Pedigree and RAPD-based DNA análisis of comercial U.S. rice cultivars. Crop Science 37: 1630-1635.

CASAS, A.M.; IGARTUA, E.; VALLÉS, M.P. and MOLINA-CANO J.L. 1998. Genetic diversity of barley cultivars grown in Spain, estimated by RFLP, similarity and coancestry coefficients. Plant Breeding 117: 429-435.

CASTRO, A. 1999. Caracterización de una muestra representativa de la colección nacional de cebada cervecera en Paysandú durante 1993. En: Beratto E. (ed.) II Congreso de cebadas malteras, INIA Carillán, Temuco, Chile (3-6 diciembre, 1996). FAO, INIA. Pag. 131-140.

CASTRO, A.; ERNST, O. 1995. Caracterización preliminar y agrupamiento del germoplasma en uso en mejoramiento de acuerdo a su calidad industrial. En: Vª Reunión Nacional de investigación en cebada cervecera. Colonia, junio de 1994. Mesa de la cebada. Pag.32-40.

CASTRO, A.; ERNST, O.; HOFFMAN, E. and BENTANCUR O. 1997. Caracterización mediante variables agronómicas y de calidad del germoplasma de cebada en Uruguay. Agrociencia 1, p 80-87.

CASTRO, A.; KEMANIAN, A. 1999. Aproximación a un modelo optimizado de desarrollo de la planta de cebada en el ambiente de producción agrícola uruguayo. En: III Congreso de cebadas malteras, Bastión del carmen, Colonia, Uruguay. FAO, Mesa de la cebada (En prensa).

CHERES, M.T.; KNAPP, S. 1998. Ancestral origins and genetic diversity of cultivated sunflower: coancestry analysis of public germplasm. Crop Science 38: 1476-1482.

COX, T.S.; KIANG, Y.T.; GORMAN, M.B. and RODGERS, D.M. 1985. Relationship between coefficient of parentage and genetic similarity indices in the Soybean. Crop Science 25: 529-532

COARCE, Y.; GALLEGO, R. and FERRE, E. 1996. A comparative analysis of the genetic relationships between rye cultivars using RFLP and RAPD markers. Euphytica 88: 107-115.

DELANNAY, X.; RODGERS, D.M. and PALMER, R.G. 1983. Relative genetic contribution among ancestral lines to North American soybean cultivars. Crop Science 23: 944-949.

DILDAY, R.H. 1990. Contribution of ancestral lines in the development of new cultivars of rice. Crop Science 30: 905-911.

DOEBLEY, J. 1989. Isozyme evidence and the evolution of crop plants. p.165-191. En: D.E. Soltis y P.S. Soltis (eds.) Isozymes in plant biology. Chapman and Hall, London.

DOLDY, M.L.; VOLLMANN, J. and LELLEY, T. 1997. Genetic diversity in soybean as determined by RAPD and microsatellite analysis. Plant Breeding 116: 331-335.

FISCHBECK, G. 1992. Barley cultivar development in Europe – success in the past and posibles changes in the future. p. 885-901. En: L. Munk (ed.) Barley Genetics VI, Vol II. Munsksgaard Intl. Publ. Ltd., Copenhagen.

FITZSIMMONDS, R.W.; WRIGLEY, C.W. 1984. Australian barleys, 2da. Edición. CSIRO, Melbourne.

GRANER, A.; LUDWIG, W.F. and MELCHINGER, A.E. 1994. Relationships among European barley germplasm: II. Comparison of RFLP and Pedigree data. Crop Science 34: 1199-1205.

GIZLICE, Z.; CARTER, T.E. and BURTON, J.W. 1993. Genetic diversity in North American soybean: I. Multivariate análisis of founding stock and relation to coefficient of parentage. Crop Science 33: 614-620.

GIZLICE, Z.; CARTER, T.E.; GERIG, T.M. and BURTON, J.W. 1996. Genetic diversity patterns in North American public soybean cultivars based on coefficient of parentage. Crop Science 36: 753-765.

HAYES, P.M.; CERONO, J.; WITSENBOER, H.; KUIPER, M.; ZABEAU, M.; SATO, K.; KLEINHOFS, A.; KUDRNA, D.; KILIAN, A.; SAGHAI-MAROOF, M.; HOFFMAN, D. and The north american barley genome mapping project. 1997. Characterizing and exploiting genetic diversity and quantitative traits in barley (*Hordeum vulgare* L.). J. Quant. Trait Loci http://probe.nalusda.gov:8000/ otherdocs/jqtl/ jqtl1997-02/

HORSLEY, R.D.; SCHWARZ, P.B. and HAMMOND, J.J. 1995. Genetic diversity in malt quality of North American six-rowed spring barley. Crop Science 35: 113-118.

JAIN, S.K.; QUALSET, C.O.; BHATT, G.M. and WU, K.K. 1975. Geographical patterns of phenotipic diversity in a world collection of Durum Wheats. Crop Science 15: 700-704.

JOHNSON, D. 1998. Applied multivariate methods for data analysis. Duxbury Press.

LUIZZI, D.; CASTRO, A. 1992. Variabilidad genética: su contribución al desarrollo del cultivo de cebada en el Uruguay. En: Resúmenes de la IIª Reunión Nacional de investigación en Cebada cervecera. La Estanzuela, mayo de 1991. INIA, Montevideo, Uruguay.

MALECOT, A. 1949. Les mathématiques de l'heredite. Masson & Cie. Paris.

MANNINEN, O.; NISSILA, E. 1997. Genetic diversity among finish six-rowed barley cultivars based on pedigree information and DNA markers. Hereditas 126: 87-93.

MARTIN, J.M.; BLAK, K. and HOCKETT, E.A. 1991. Diversity among North American spring barley cultivars based on coefficients of parentage. Crop Science 31: 1131-1137.

MESSMER, M.M.; MELCHINGER, A.E.; HERMANN, R.G. and BOPPENMAIER, J. 1993. Relationships among early European maize inbreds: II. Comparison of pedigree and RFLP data. Crop Science 23: 944-950.

PAULL, J.G.; CHALMERS, K.J.; KARAKOVUSIS, A.; KRETSCHMER, J.M.; MANNING, S. and LANGRIDGE, P. 1998. Genetic diversity in australian wheat varieties and breeding materials based on RFLP data. Theor. Appl. Genet. 96: 435-446.

PEETERS, J.P. 1988. The emergence of new centers of diversity: evidence from barley. Theor. App. Genetics 76: 17-24.

PRABHU, R.R.; WEBB, D.; JESSEN, H.; LUK, S.; SMITH, S. and GRESSHOF, P.M. 1997. Genetic relatedness among soybean genotypes using DNA amplification fingerprints (DAF), RFLP, and pedigree. Crop Science 37: 1590-1595.

RASSMUSSON, D.C. 1992. Barley breeding at present and in the future. p. 865-877 . En: L. Munk (ed.) Barley Genetics VI, Vol II. Munsksgaard Intl. Publ. Ltd., Copenhagen.

RASSMUSSON, D.C.; PHILLIPS, R.L. 1997. Plant breeding progress and genetic diversity from de novo variation and elevated epistasis. Crop Science 37: 303-310.

ROHLF, F.J. 1997. NTSYSpc. Numeral taxonomy and multivariate analysis system, Version 2.00. Users Guide. Exeter software, Satauket, NY.

RUSSELL, J.R.; FULLER, J.D.; MACAULAY, M.; HATZ, B.G.; JAHOOR, A.; POWELL, W. and WAUGH, R. 1997. Direct comparison of levels of genetic variation among barley accessions detected by RFLPs, AFLPs, SSRs and RAPDs. Theor.Appl.Genet. 95: 714-722.

SAS INSTITUTE INC. 1996. SAS lenguage: Reference, Versión 6.12. SAS Institute, Cary, NC.

SCHUT, J.W.; QI, X. and STAM, P. 1997. Association between relationship measures based on AFLP markers, pedigree data and morphological traits in barley. Theor.Appl.Genet. 95: 1161-1168.

SMITH, J.S.C.; CHIN, E.C.L.; SHU, H.; SMITH, O.S.; WALL, S.J.; SENIOR, M.L.; MITCHELL, S.E.; KRESOVICH, S. and ZIEGLE, J. 1997. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisons with data from RFLPs and pedigree. Theor. Appl. Genet. 95: 163-173.

SOUZA, E.; SORRELS, M.E. 1989. Pedigree analysis of North American oat cultivars released from 1951 to 1985. Crop Science 29: 595-601.

SNELLER, C.H. 1994. Pedigree analysis of elite soybean lines. Crop Science 34: 1515-1522.

THOMPSON, J.A.; NELSON, R.L. and VODKIN, L.O. 1998. Identification of diverse soybean germplasm using RAPD markers. Crop Science 38: 1348-1355.

TINKER, N. 1994. KIN Software 1.0.4.

TINKER, N.; FORTÍN, M.G. and MATHER, D.E. 1993. Random amplified polymorphic DNA and pedigree relationships in spring barley. Theor.Appl.Genet. 85: 976-984.

TINKER, N.; MATHER, D.E. 1993. KIN: Software for computing kinship coefficients. J.Hered. 84:238.

VAN ESBROECK, G.A.; BOWMAN, D.T.; MAY, O.L. and CALHOUN, D.S. 1999. Genetic similarities indices for ancestral cotton cultivars and their impact on genetic diversity estimates of modern cultivars. Crop Science 39: 323-328.

WYCH, R.D.; RASMUSSON, D.C. 1983. Genetic improvement in malting barley since 1920. Crop Science 23: 1037-1040.