

DIVERSIDAD ISOENZIMÁTICA DEL GERMOPLASMA DE LENTEJAS (*Lens culinaris* Medik) NATURALIZADO EN CHILE¹

Isoenzymatic diversity of Chilean lentil germplasm (*Lens culinaris* Medik)

Mitzzy Rodríguez M.², Mario Paredes C.³, Viviana Becerra V.³

ABSTRACT

The genetic diversity of 91 representative Chilean and exotic lentil landraces was analysed using 10 isozyme systems as genetic markers. Genetic distances based upon isoenzymatic diversity did not detect a clear-cut separation between micro and macrosperma genotypes. Cluster analyses detected two groups, one including 95% of the accessions studied and all the Chilean cultivars which represented 44.7% and constituted a homogeneous group. The reduced genetic distance observed between Chilean and other lentil materials may have a significant impact upon the germplasm conservation and genetic improvement of this species in Chile.

Key words: genetic diversity, isozymes, germplasm evaluation.

INTRODUCCIÓN

La lenteja (*Lens culinaris* Medik) es una especie de autopolinización ($2n = 2x = 14$) perteneciente a la familia *Fabaceae* (Hawtin y Saxena, 1980). Las variedades de lenteja se pueden clasificar de acuerdo al tamaño de su semilla (Sharma *et al.*, 1995; Hawtin y Saxena, 1980; Papp, 1980) en "tipo macrosperma", de semilla grande, y "tipo microsperma", de semilla pequeña.

La lenteja fue introducida a Chile por los españoles en el siglo XVII (Tay *et al.*, 1994). Actual-

mente, esta especie se cultiva en el secano de la VI a la IX Región del país, concentrándose el 70% de la superficie sembrada en la VIII Región (INE, 1994). La producción de lentejas se realiza fundamentalmente por agricultores pequeños y medianos, en suelos que en su mayoría están altamente erosionados, y con el uso de una escasa tecnología. En el secano interior el cultivo de la lenteja forma parte del sistema de mediería, junto a la arveja y el trigo, representando una de las pocas alternativas de cultivo para autoconsumo y comercialización (Bascur, 1993).

Tradicionalmente Chile ha sido un exportador de lentejas, tipo macrosperma o "lentejón chileno". Sin embargo, en los últimos años, esta situación ha cambiado drásticamente, pasando a ser un país importador de lentejas (ODEPA, 1995).

A pesar que el cultivo de la lenteja en el país es bastante antiguo, existe un escaso conocimiento de la diversidad genética del germoplasma.

¹Recepción de originales: 20 de agosto de 1998.

Parte del trabajo presentado por el primer autor para optar al título de Ingeniero Agrónomo de la Facultad de Agronomía, Universidad Adventista de Chile, Chillán, Chile.

²Contramaestri Micalvi 20, Ñuñoa, Santiago, Chile.

³Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Centro Regional de Investigación Quilamapu, Casilla 426, Chillán, Chile.

E-mail: mparedes@quilamapu.inia.cl

Estudios realizados en Latinoamérica indican que la lenteja macrosperma posee una escasa variabilidad en características morfológicas y agronómicas (Bascur, 1993), siendo relativamente mayor la observada en las lentejas microsperma (Agrawal y Lal, 1985; Anwar y Sodiq, 1986; Baylan y Singh, 1986).

El conocimiento de la diversidad genética de la lenteja es un requisito indispensable para fijar políticas para su conservación y para mejorar su competitividad a través de la creación de nuevas variedades que respondan a las exigencias del mercado nacional e internacional.

Los marcadores bioquímicos y moleculares pueden cumplir un papel importante en el estudio de la diversidad genética del germoplasma chileno de lentejas, y de esta manera asociar esta información con las características morfológicas y agronómicas de la especie (Muehlbauer *et al.*, 1995; Weeden *et al.*, 1988).

Los marcadores bioquímicos presentan las siguientes ventajas: son simples de usar, de bajo costo, no son afectados por el crecimiento de la planta, y su herencia es de tipo codominante (Weeden, 1989). Sin embargo, una de las desventajas de estos marcadores es su bajo nivel de polimorfismo, al ser comparados con los marcadores moleculares (Weeden, 1989; Muehlbauer *et al.*, 1994).

En lentejas las isoenzimas han sido utilizadas para evaluar la diversidad genética del germoplasma cultivado y silvestre (Hoffman *et al.*, 1986; Erskine y Muehlbauer, 1991; De la Rosa y Jouvé, 1992; Tahir *et al.*, 1994).

Los objetivos del presente estudio fueron estudiar la variabilidad genética del germoplasma de la lenteja chilena, y además intentar diferenciar los dos grupos de lentejas, macro y microsperma, usando catorce sistemas isoenzimáticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. En este estudio se utilizaron 91 accesiones de lenteja, 68 genotipos macrospermas y 23 microsperma (macrosperma > 4 g/100 semillas; microsperma < 4 g/100 semillas). De los 68 genotipos macrosperma, 45 son de origen chileno y fueron colectados en diferentes partes del país (Cuadro 1). El germoplasma extranjero (Cuadro 2) fue introducido desde el Centro Internacional de Investigación para Suelos de Secano (ICARDA), Alepo, Siria.

Método: Las 91 accesiones de lentejas fueron evaluadas con 14 sistemas isoenzimáticos: aspartato amino transferasa (AAT), alcohol dehidrogenasa (ADH), aldolasa (ALD), diaforasa (DIAP), esterasa (EST), glucosa-6-fosfato dehidrogenasa (6PGD), glucosa fosfato isomerasa (GPI), glutamato dehidrogenasa (GDH), isocitrato dehidrogenasa (IDH), leucina amino peptidasa (LAP), enzima málica (ME), malato dehidrogenasa (MDH), fosfoglucomutasa (PGM), shikimato dehidrogenasa (SKDH).

Las 91 accesiones seleccionadas del Banco de Germoplasma del Centro Regional de Investigaciones Quilamapu, del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Chillán, Chile, se sembraron en invernadero en una mezcla de tierra y arena. Las plantas crecieron a temperaturas que oscilaron entre 16 y 25°C. Para el análisis de los 14 sistemas enzimáticos se cosecharon hojas jóvenes y sanas, ya que ellas presentan una mayor actividad enzimática. El buffer de extracción y las condiciones electroforéticas para el análisis de las isoenzimas fueron las utilizadas por Koenig y Gepts (1989).

Para el análisis estadístico de los datos se calcularon las frecuencias alélicas de todas las accesiones. Posteriormente, se utilizó el programa NTSYS-pc (Rolf, 1992) para determinar la similitud genética entre ellas.

Cuadro 1. Número de inscripción, localidad, región, ubicación geográfica y peso de 100 semillas (g) de accesiones de lentejas

Table 1. Accession number, location, region, geographic location and 100 seed weight (g) of lentil germplasm

Nº de inscripción	Localidad	Región	Long. S	Lat. O	Peso 100 sem. (g)
1013	Longotoma	V	32°23'	71°22'	5,8
1001	La Ligua	V	32°27'	71°14'	4,5
1011	Zapallar	V	32°33'	71°27'	5,6
1002	Catapilco	V	32°34'	71°16'	5,3
1048	San Felipe	V	32°44'	70°46'	5,1
1216	Quintero	V	32°47'	71°32'	5,6
1007, 2059	Llolleo	V	33°33'	71°36'	5,8-5,4
2066, 2068	Navidad	VI	33°57'	71°50'	5,7-5,7
1009	Matanza	VI	33°57'	71°52'	5,6
3015	Machalí	VI	34°11'	70°39'	5,8
3020, 3021	Rosario	VI	34°21'	70°50'	6,4-6,9
3019	Rengo	VI	34°24'	70°51'	6,3
3018	Malloa	VI	34°26'	70°57'	6,3
3023	Colchagua	VI	34°33'	71°23'	6,6
1020	San Juan	VI	34°42'	70°55'	5,1
1028	Hualañé	VII	34°58'	71°48'	5,8
1219	Licantén	VII	34°59'	71°59'	6,4
1218, 3003	Curepto	VII	35°6'	71°1'	5,7-5,3
3035, 3048	Linares	VII	35°50'	71°35'	6,5-4,2
1017, 1221	Chanco	VII	35°44'	72°32'	4,8-5,8
1220	Parral	VII	36°8'	71°50'	6,3
3046	Coelemu	VIII	36°29'	72°42'	5,6
3043	San Carlos	VIII	36°26'	71°56'	6,0
4100	Portezuelo	VIII	36°32'	72°26'	4,8
1025, 3039	Chillán	VIII	36°36'	72°6'	5,8-5,9
3012, 3013	Concepción	VIII	36°49'	73°3'	6,2-5,9
3051	Yumbel	VIII	37°8'	72°32'	4,8
3017, 3040	Los Ángeles	VIII	37°28'	72°20'	6,5-6,4
3009, 3049	Renaico	VIII	37°40'	72°37'	5,5-6,0
1008	Mulchén	IX	37°43'	72°37'	6,5
1222, 3037	Angol	IX	37°48'	72°42'	6,0-6,1
3002	Mininco	IX	37°47'	72°28'	6,3
3052, 3010	Traiguén	IX	38°15'	72°40'	6,0-6,5

La relación entre los genotipos se estableció mediante un dendrograma basado en el método "Unweighted pair group method with arithmetic mean" (UPGMA) y se utilizó el método estadístico de componentes principales (Instituto SAS, 1985).

RESULTADOS

De los 14 sistemas enzimáticos estudiados, cuatro presentaron una baja resolución (ALD, ADH, IDH, GDH), por lo cual no fueron utilizados en la evaluación final del germoplasma de lentejas.

Cuadro 2. Número de inscripción, país, accesión y peso de 100 semillas (g) de lentejas introducidas recientemente al país**Table 2. Accession number, country, genotype and 100 seed weight of lentil germplasm introduced to Chile**

Nº inscripción	País	Genotipo	Peso 100 sem. (g)
1238	España	España 1039	6,2
1245		España 1112	5,8
1247		España 1201	6,0
1254	Argelia	Resist. Peraville	2,9
1255		Large Blonde	
		Figer	5,6
1260		Pignéé 296	6,3
3069	Rusia	Penzenskaja 14	5,4
4001		Mostnaja-Melkosemiannaja	3,0
4005		Talinskaja-6	3,0
5020		Belocer-Kouskaja 24 URSS 1937	2,2
6143		Ahunskaia Zelenaja	6,1
1252	Francia	Vilmorín 28291	4,8
1253		Vilmorín 28441	5,1
1204	Grecia	Larissa 02	3,2
3033		Larissa F-27	6,0
3034		Larissa F-18	5,7
1234	Inglaterra	Londres	5,7
2032	Turquía	P.I.169519 EE.UU.	3,9
2045		P.I.172947 EE.UU	2,4
2046		P.I.172949 EE.UU	6,1
-		ILL 642	7,1
		ILL 5526	3,4
3059	Marruecos	Moyenne Claire	3,0
3061		Petite Brune	
		de Thala	3,4
3064		Selection C.R.A	4,7
-		ILL 7590	4,2
-		ILL 5602	5,7
4009	Italia	Coss et Germ	5,2
4008	Alemania	Leipzig	2,4
6033		Berlín 41/61 Balkam 1171	3,7
6004		Berlín 5/58 Balkam 1171	2,5
-	Siria	ILL 45	7,4
-		ILL 26	6,1
-	Líbano	ILL 5666	4,7
-		ILL 5625	4,9
-	India	ILL 109	3,4
-		ILL 518	2,4
-		ILL 2950	2,1
-		ILL 3703	2,0
-		ILL 2501	2,2
-	Pakistán	ILL 6350	2,0
-		ILL 7625	2,1
-		ILL 4405	2,2
-		ILL 6300	1,8
-		ILL 2186	2,5
4027	Libia	Cyrenaica	2,9

Los 10 sistemas restantes presentaron una buena resolución y consistencia en los fenotipos observados. De los 10 sistemas seleccionados, cinco enzimas (AAT, LAP, ME, GPI y 6PGD) presentaron diferentes grados de polimorfismo, lo cual concuerda con estudios realizados en lentejas y en otras especies de leguminosas (Muehlbauer *et al.*, 1989).

El sistema más informativo, con sus tres formas alélicas fue el AAT el cual originó un total de cuatro fenotipos de bandas isoenzimáticas. Los sistemas LAP, ME, GPI y 6PGD generaron sólo dos fenotipos cada uno de ellos.

Los cinco sistemas restantes (SKDH, PGM, MDH, EST y DIAP), fueron monomórficos y por lo tanto no informativos en el análisis de la variabilidad genética.

Diversidad genética en lentejas

El dendrograma indicó que los genotipos analizados se distribuyeron en dos grupos distintos (Figura 1). El grupo I estuvo formado por 86 accesiones, lo que equivale al 94,5% del total. Este grupo fue relativamente homogéneo y bastante cercano desde el punto de vista genético. Sin embargo, en el grupo I fue posible distinguir siete subgrupos, los cuales poseen combinaciones específicas de alelos. El subgrupo IA incluyó el 52% de las accesiones del grupo I. Esta agrupación está formada básicamente por accesiones chilenas (87,2%); el peso promedio de 100 semillas de este grupo fue de 5,6 g (2,4-6,9) y las isoenzimas que determinaron mejor la diferenciación entre los grupos macro y microsperma fueron Aat-1 y AAT-2.

El subgrupo IB agrupó siete genotipos, todos de origen extranjero y con un peso promedio de 100 semillas de 4,4 g (3,0-6,2). La frecuencia alélica mas alta del grupo fue Aat-1b. El subgrupo IC fue un grupo pequeño, formado solo por cinco genotipos, todos extranjeros y de calibre pequeño, 3,4 g/100 semillas (2,4-5,2). Este subgrupo se diferenció principalmente

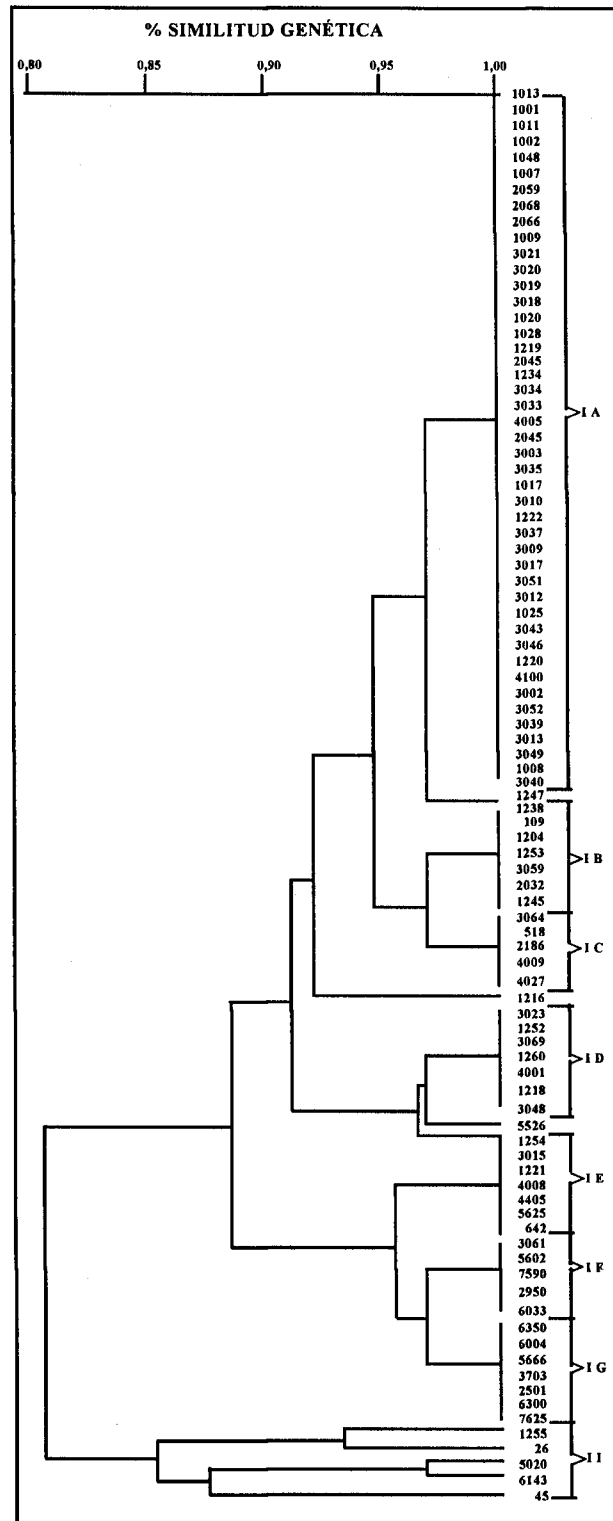


Figura 1. Dendrograma de 91 genotipos de lentejas chilenas e introducidas basado en isoenzimas.
 Figure 1. Dendrogram of 91 Chilean and introduced lentil accessions based upon isozymes.

por la frecuencia de los alelos de la aloenzima Aat-2. En el subgrupo ID se agruparon siete accesiones entre las cuales se encuentran tres materiales colectados en Chile. El peso promedio de este grupo fue de 5,5 g/100 semillas (3,0-6,0). En este grupo se presentó una alta frecuencia del alelo Aat-2b y Me-1a.

El subgrupo IE, integrado por 6 accesiones, incluyó entre otros, dos genotipos colectados en Chile. El peso promedio fue de 4,6 g/100 semillas (2,2-7,1) y con una alta frecuencia del alelo Lap-1b y Aat-2b. El subgrupo IF estuvo conformado por cinco genotipos, todos de origen extranjero y con un peso de 4,0 g/100 semillas (2,1-5,7). Este grupo presentó una alta frecuencia de los alelos Aat-1b y Lap-1b. Finalmente, el subgrupo IG, formado por siete accesiones de origen extranjero y con un peso de 2,5 g/100 semillas (1,8-4,7) y tuvo la mayor frecuencia alélica para Lap-1b.

El Grupo II, distanciado genéticamente del Grupo I en un 80%, estuvo conformado sólo por cinco materiales introducidos, los cuales difirieron en el peso de las 100 semillas (2,2-7,4). Este grupo presentó una alta frecuencia del alelo 6Pdg-1b.

Al analizar las frecuencias alélicas observadas en lentejas de tipo macro y microsperma (Cuadro 3), se observa una mayor frecuencia del alelo Aat-2a en las microsperma y del alelo Aat-2b y Lap-1a en las macrosperma. Sin embargo, esta diferencia en las frecuencias alélicas no fue suficiente para separar entre estos dos tipos de lentejas.

COMPONENTES PRINCIPALES

Los Componentes Principales 1 y 2 explicaron el 49% de la variación observada. La enzima málica (Me) y glucosa-6 fosfato dehidrogenasa (6-Pgd) en su zona más rápida de migración son los *loci* que explican en mayor porcentaje ($r = 0,78$ y $0,82$, respectivamente) la separación de

Cuadro 3. Frecuencias alélicas observadas en lentejas macro y microsperma* para nueve isoenzimas

Table 3. Allelic frequencies observed in macro and microsperma lentil germplasm for nine isozym

Aloenzima	Alelo	Macrosperma Microsperma	
		(n = 272)	(n = 92)
Aat-1	a	0,93	0,77
	b	0,07	0,23
Aat-2	a	0,12	0,75
	b	0,88	0,25
Aat-3	a	1,00	1,00
Gpi-1	a	0,002	0,00
	b	0,998	1,00
Gpi-2	a	1,00	1,00
Lap-1	a	0,87	0,57
	b	0,13	0,43
Me-1	a	0,12	0,14
	b	0,88	0,86
6Pgd-1	a	0,02	0,04
	b	0,98	0,96
6Pgd-2	a	1,00	1,00

*Macrosperma: > a 4,0 g/100 semillas.

Microsperma: < a 4,0 g/100 semillas.

los genotipos. El análisis de componentes principales agrupó la mayoría de las accesiones chilenas (IA) bajo un mismo punto (Figura 2). Los subgrupos IB e IC fueron agrupados en un solo punto dado su similitud genética. Los genotipos introducidos se distribuyeron alejados de los genotipos naturalizados (Figura 2).

DISCUSIÓN

El nivel de polimorfismo encontrado en lentejas fue bajo y concuerda con otros trabajos realizados en lentejas (Hoffman *et al.*, 1986; Erskine y Muehlbauer, 1991; De la Rosa y Jouve, 1992). De los 17 *loci* analizados sólo seis mostraron polimorfismo (Aat-1, Aat-2, Gpi-1, Lap-1, Me-1, 6Pgd-1) y 11 *loci* fueron monomórficos (Aat-3, Gpi-2, 6Pgd-2, Pgm-1, Pgm-2, Mdh-1, Mdh-2, Skdh, Diap-1, Diap-2 y Est).

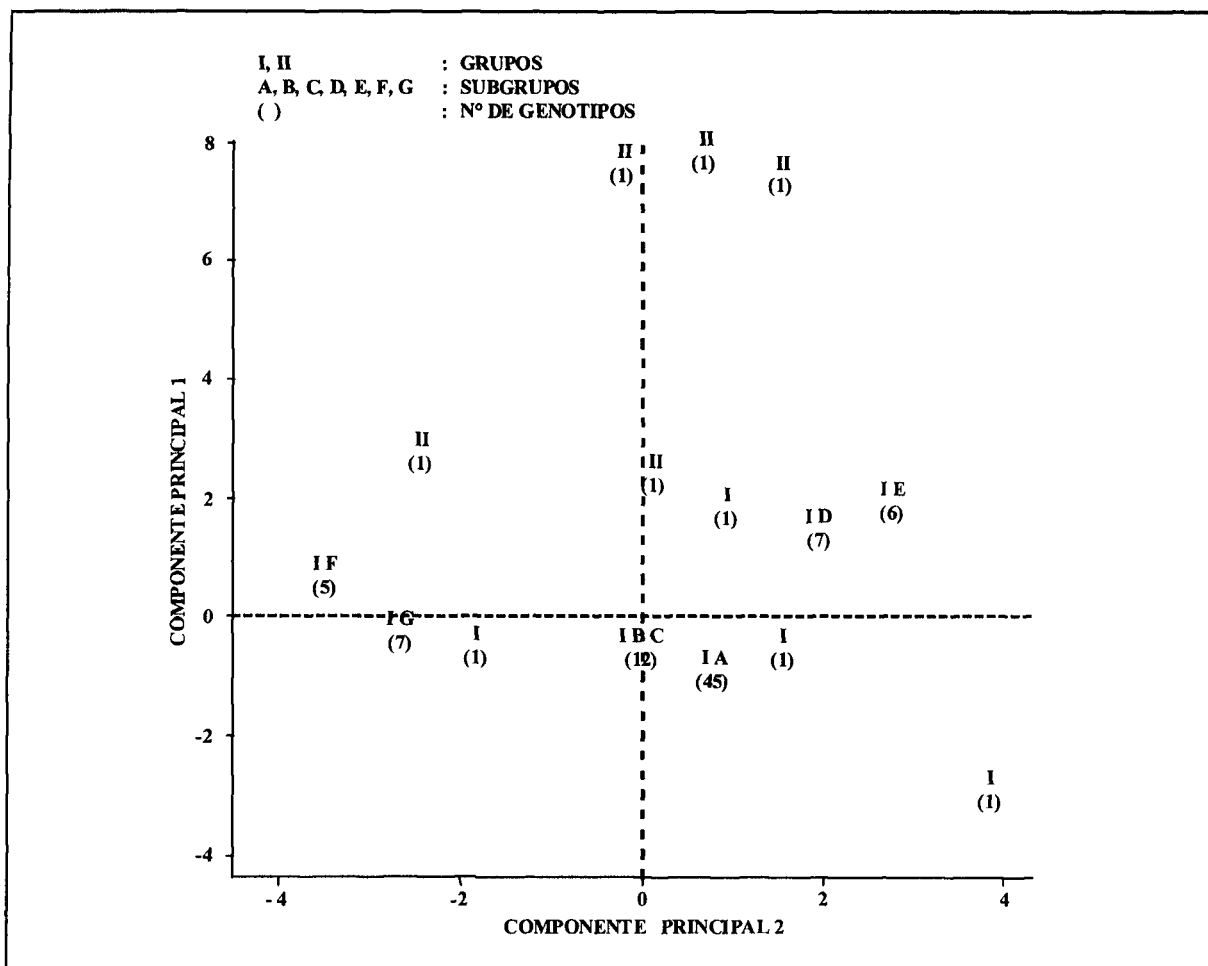


Figura 2. Análisis de componentes principales de datos isoenzimáticos en lentejas chilenas e introducidas.
 Figure 2. Principal component analysis of isoenzymatic data for Chilean and introduced lentil accessions.

El índice de similitud genética indicó que el promedio de esta población fue de 0,85, la cual concuerda con valores informados previamente en lentejas (Doebley, 1989).

El dendrograma de similitud genética mostró la presencia de dos grupos (Figura 1), los cuales no estuvieron asociados con el tamaño de la semilla. Es decir, los marcadores utilizados no fueron capaces de separar claramente el material evaluado en macro y microsperma. Una posible explicación de estos resultados podría ser que el número de alelos utilizados no fue suficiente para producir esta diferenciación. Sin embargo, la presencia de un mayor número de alelos poli-

mórficos podría ayudar a diferenciar este tipo de materiales (Sharma *et al.*, 1995).

En este punto, es importante señalar que existe bastante ambigüedad en la clasificación de las semillas de lentejas macro y microsperma. Por ejemplo, Papp (1980), señala que las lentejas microsperma se caracterizan por tener un calibre promedio menor a 4 mm y las macrosperma un calibre superior a 4 mm, y un peso mayor de 5,4 g/100 semillas. En cambio, Hawtin y Saxena (1980) definen a las variedades microsperma como aquellas que poseen un calibre de grano promedio menor a 6 mm.

Dentro del grupo I se pudo distinguir siete subgrupos, todos estrechamente relacionados desde el punto de vista genético, como quedó establecido al observar las distancias genéticas entre los diferentes subgrupos observados en el dendrograma (Figura 1). Este grupo incluye material de lenteja naturalizado en Chile e introducido recientemente. Es importante señalar también que el material chileno se agrupó en forma consistente y uniforme en un solo sector (IA), lo que indica su similitud con respecto a los alelos analizados. Esta observación concuerda con la escasa variación encontrada para algunas características tales como altura de planta, precocidad, hábito de crecimiento y rendimiento.

La ausencia de variabilidad genética observada hasta ahora en los materiales chilenos, indicaría que el material introducido años atrás fue bastante uniforme y posiblemente provino de una sola localidad de España. Aparentemente, los 500 años transcurridos desde la introducción de esta especie al país, no han sido suficientes, para producir adaptaciones específicas a los diferentes ambientes agroclimáticos en que ha sido sembrada.

La escasa variabilidad genética presente en la especie de lenteja cultivada ha repercutido negativamente en el mejoramiento genético de la especie, y recientemente, en otros aspectos tales como la obtención de un mapa genético saturado. Actualmente, el mapa de ligamiento genético de lentejas tiene solamente 22 *loci* isoenzimáticos, 14 fragmentos de restricción polimórficos (RFLP) y 8 marcadores morfológicos (Tahir *et al.*, 1994).

Los estudios de herencia (Vaillancourt y Slinkard, 1992) y de ligamiento genético realizados en lentejas (Zamir y Ladizinsky, 1984; Havey y Muehlbauer, 1989; Muehlbauer *et al.*, 1989; Weeden *et al.*, 1992; Tahir *et al.*, 1994) pueden facilitar y aumentar significativamente la eficiencia de los programas de mejoramiento gené-

tico de lentejas (Havey y Muehlbauer, 1989; Muehlbauer *et al.*, 1989; Tahir *et al.*, 1994).

De acuerdo a lo planteado, el mejoramiento genético de las “lentejas chilenas” debería enfocarse a la ampliación de la diversidad genética del germoplasma nacional, lo cual se podría lograr seleccionando padres mejorantes que posean una mayor diversidad genética y un tamaño de grano adecuado. En este sentido, un grupo de genotipos interesante de considerar para este propósito podrían ser los materiales macrosperma que forman parte del grupo II. Estos materiales presentan una mayor diversidad y distancia genética en los *loci* analizados al ser comparados con los materiales chilenos. Algunos de estos genotipos tienen un tamaño de grano aceptable desde el punto de vista comercial, lo cual facilitaría el trabajo de mejoramiento genético de la lenteja chilena.

El cruzamiento de lenteja macrosperma y microsperma hace bastante difícil el proceso de recuperación del tamaño o calibre de la semilla, característica muy deseada desde el punto de vista comercial y por la cual la lenteja chilena tiene buena demanda.

Desde el punto de vista de la conservación de los recursos genéticos, y a pesar que la “lenteja chilena” tiene una escasa variabilidad genética para los *loci* analizados, es altamente recomendable mantener y conservar los materiales chilenos, ya que éstos tienen algunas características específicas que les permiten formar un grupo separado del resto del germoplasma.

Es necesario indicar que dado el escaso grado de polimorfismo que presenta la especie a nivel de isoenzimas, es necesario continuar con la evaluación de este material con marcadores moleculares. Estos marcadores pueden ayudar a caracterizar en forma más completa el germoplasma chileno de lentejas ya que son capaces de proveer una mayor cantidad de información genética.

RESUMEN

Se evaluó la diversidad genética de 91 accesiones de lentejas chilenas e introducidas, tipo macro y microsperma, usando 10 sistemas isoenzimáticos como marcadores genéticos. La distancia genética basada en la diversidad isoenzimática no indicó una clara separación entre las lentejas macro y microsperma. El análisis de agrupamientos utilizado logró separar el material analizado en dos grupos. El primer grupo incluyó el 95% de las accesiones, dentro de las cuales están incluidas las variedades chilenas. Dentro

de este grupo las variedades chilenas constituyeron un 44,7% y formaron un grupo bastante homogéneo. La distancia genética entre el material chileno y los otros materiales analizados es bastante estrecha, lo cual puede tener una fuerte incidencia en la conservación de estos recursos genéticos y en el mejoramiento genético de la especie en Chile.

Palabras claves: Diversidad genética, isoenzimas, evaluación de germoplasma.

LITERATURA CITADA

- AGRAWAL, I. AND LAL, M. S. 1985. Studies on variability in lentil germplasm in Madhya Pradesh, India. LENS 12: 26-27.
- ANWAR, R. AND SODIQ, M. B. 1986. Exploration and collection of natural genetic variability of lentil in Punjab, Pakistan. LENS 13: 3-5.
- BALYAN, H. S. AND SINGH, S. 1986. Genetic divergence in lentil. LENS 13: 3-5.
- BASCUR, G. 1993. La lenteja y el haba en América Latina: su importancia, factores limitantes e investigación. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA). Aleppo, Syria. p. 48-120.
- DE LA ROSA, L. AND JOUVE, N. 1992. Genetic variation for isozyme genes and proteins in Spanish primitive cultivars and wild subspecies of *Lens*. Euphytica 59: 181-187.
- DOEBLEY, D. E. 1989. Isozymes and the evolution of crop plants. In: Soltis, D.E. and Soltis, P.S. (Eds.) Isozymes in plant biology. Dioscorides. Portland, USA. p. 165-191.
- ERSKINE, W. AND MUEHLBAUER, F. J. 1991. Allozyme and morphological variability, outcrossing rate and core collection formation in lentil germplasm. Theor. Appl. Genet. 83: 119-125.
- HAVEY, M. J. AND MUEHLBAUER, F. J. 1989. Linkages between restriction fragment length, isozyme, and morphological markers in lentil. Theor. Appl. Genet. 77:395-401.
- HAWTIN, G. C. AND SAXENA, M. C. 1980. Some recent developments in the understanding and improvement of lentils. LENS 7: 4-5.
- HOFFMAN, D. L.; SOLTIS D. E.; MUEHLBAUER, F. J. AND LADIZINSKY, G. 1986. Isozyme polymorphism in *Lens* (Leguminosae). Syst. Bot. 11: 392-402.
- INE. 1994. Estadísticas Agropecuarias Año 1993-1994. Instituto Nacional de Estadísticas (INE). Santiago, Chile. p. 163.
- KOENIG, R. AND GEPTS, P. 1989. Allozyme diversity in wild *Phaseolus vulgaris*: further evidence for two major centers of genetic diversity. Theor. Appl. Genet. 78: 809-817.

- MUEHLBAUER, F. J.; WEEDEN, N. F. AND HOFFMAN, D. L. 1989. Inheritance and linkage relationships of morphological and isozyme *loci* in lentil (*Lens Miller*). *J. Hered.* 80: 298-303.
- MUEHLBAUER, F. J.; KAISER, W. J. AND SIMON, C. J. 1994. Potential for wild species in cool season food legume breeding. *Euphytica* 73: 109-114.
- MUEHLBAUER, F. J.; KAISER, W. J.; CLEMENT, S. L. AND SUMMERFIELD, R. J. 1995. Production and breeding of lentil. *Adv. Agron.* 54: 283-332.
- NEI, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 70: 3321-3323.
- ODEPA. 1995. Comercio exterior silvoagropecuario 1991-1994. Ministerio de Agricultura, Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). Santiago, Chile. 18 p.
- PAPP, E. 1980. Drawings of *Lens culinaris* ssp. *Macrosperma* and *L. ssp. Microsperma*. *Lens* 7: 1-3.
- RHOLF, F. J. 1992. NTSYS-pc Numerical Taxonomy and multivariate analysis system, version 1.70. Exeter Publications. New York, USA.
- SAS INSTITUTE. 1985. SAS user's guide: Statistics. 5th ed. SAS Institute. Cary, North Carolina, USA. 92 p.
- SHARMA, S. K.; CHAHOTA, R. K. AND LAL, CH. 1995. Genetic diversity and agronomic evaluation of microsperma and macrosperma lentils. *Genet. Res. & Crop Evol.* 42: 217-222.
- TAHIR, M.; MUEHLBAUER, F. J. AND SPAETH, S. C. 1994. Association of isozyme markers with quantitative trait *loci* in random single seed descent derived lines of lentil (*Lens culinaris* Medik). *Euphytica* 75: 111-119.
- TAY, J. U.; BASCUR, G. AND PEÑALOZA, E. 1994. Lentil production in Chile. *In: Muehlbauer F. J.; Kaiser W. J. E. (Eds.). Expanding the production and use of cool season food legumes.* Kluwer Academic Publisher. Netherland. p. 399-411.
- VAILLANCOURT, R. E AND SLINKARD, A. E. 1992. Inheritance of new genetic markers in lentil (*Lens Miller*). *Euphytica* 64: 227-236.
- WEEDEN, N. 1989. Applications of isozymes in plant breeding. *In: Janick J. (Ed.). Plant Breed. Rev.* 6: 11-54.
- WEEDEN, N. F.; MUEHLBAUER, F. J. AND LADIZINSKY, G. 1992. Extensive conservation of linkage relationships between pea and lentil genetic maps. *J. Hered.* 83: 123-129.
- WEEDEN, N. F.; ZAMIR, D. AND TADMOR, Y. 1988. Applications of isozyme analysis in pulse crops. *In: Summerfield, R.J. (Ed.). World Crops: Cool Season Food Legumes.* Kluwer Academic Publisher. Netherland. p. 979-987.
- ZAMIR, D. AND LADIZINSKY, G. 1984. Genetics of allozyme variants and linkage groups in lentils. *Euphytica* 33: 329-336.