

ESTRUCTURA POBLACIONAL Y DIVERSIDAD GENÉTICA DE REBAÑOS BOVINOS DE CARNE DEL SUR DE CHILE

M^a Gabriela Pizarro ⁽¹⁾, Fernando Mujica ⁽²⁾, Ricardo Felmer ⁽³⁾

⁽¹⁾ Universidad Católica de Temuco. kalufour@yahoo.es, ⁽²⁾ Universidad Austral de Chile, Casilla 567, Valdivia, ⁽³⁾ Instituto de Investigación Agropecuaria, Carillanca. Casilla 58 D, **Temuco**.

ABSTRACT

Population structure and genetic diversity of bovine meat herds of Southern Chile

Key words: bovine, microsatellites, PCR, heterozygosity, polymorphism, genetic diversity.

The genetic variability observed in domesticated animal species is progressively disappearing due to breed replacement and introgressions aimed at improving productivity and quality. These actions have eroded important adaptation traits, such as disease resistance and tolerance to harsh environments, usually found in local breeds. Currently, there is not sufficient information to understand the relationships among bovine breeds locally adapted and those of exotic origin and recently introduced. In the last decades, a number of genetic markers have become available to study the genetic diversity in a number of domestic animal species. In the present work, 10 microsatellite markers were used to study the genetic diversity and population structure of 212 bovine individuals (eight genotypes) distributed in several geographical Chilean zones. The microsatellites were amplified using PCR and the fragments were separated electrophoretically using the sequencer ABI PRISM 310. The results showed a clear evidence of population structure among eight bovine genotypes found in southern Chile. Estimate the genetic variability through the calculation of gene frequency allowed heterozygosity per locus to be determined, which varied between 0.61 SPS115 to 0.85 TGLA227. The average heterozygosity of the population was 0.73. According to the PIC, all loci studied were informative, with values that ranged from 0.58 SPS115 to 0.84 TGLA227, with an average population of 0.70. It was concluded that among

RESUMEN

Palabras clave: bovinos, microsatélites, PCR, heterocigocidad, polimorfismo, diversidad genética.

La variabilidad genética presente en especies animales domesticadas ha desaparecido progresivamente debido, en gran parte, a la sustitución de razas y cruzamientos dirigidos destinados a incrementar la productividad y calidad de los productos animales. Lo anterior, ha erosionado características adaptativas presentes en razas locales, tales como resistencia a enfermedades y tolerancia a climas adversos. Actualmente, no existe información suficiente que permita comprender las relaciones genéticas entre los genotipos bovinos localmente adaptados y aquellos exóticos introducidas con posterioridad al país. En las últimas décadas ha existido un notorio aumento en la disponibilidad de marcadores genéticos destinados al estudio de la diversidad genética de especies domesticadas. En este estudio, 10 marcadores microsatélites fueron utilizados para estudiar la diversidad genética y estructura poblacional en un total de 212 individuos (ocho genotipos) distribuidos en diferentes zonas geográficas del país. Los microsatélites fueron amplificados mediante reacciones PCR y los fragmentos amplificados separados electroforéticamente en un secuenciador automático ABI PRISM 310. El estudio describió la estructura poblacional y diversidad genética en ocho genotipos. La determinación de la variabilidad genética mediante el cálculo de frecuencia génica permitió estimar la heterocigocidad por locus que varió entre 0,61 para el marcador SPS115 y 0,85 para el marcador TGLA227, obteniéndose una heterocigocidad media de la población de 0,73. Según el PIC (Contenido de información polimórfica) todos los loci

the microsatellite markers analyzed there was a high degree of polymorphism; the number of alleles per locus in the population varied between nine for the SPS115 marker and 19 for the TGLA122 and INRA23 markers, respectively. In this way, the genetic analysis carried out revealed a high hybridization between beef breeds with subsequent probability of 0.99 and an average F_{st} (Index of genetic differentiation) in the population of 0.1371 (13.7%), which confirm the high genetic variation existing in the populations studied.

estudiados fueron informativos, encontrándose que para la población de animales analizados los rangos variaron entre 0,58 para el marcador SPS115 y 0,84 para el marcador TGLA227, con un promedio de la población de 0,70. Se concluyó así que dentro de los marcadores microsatelitales analizados se encuentra un alto grado de polimorfismo, variando el número de alelos por locus en la población entre nueve para el marcador SPS115 a 19 para los marcadores TGLA122 e INRA23. De esta forma, el análisis genético realizado evidenció una elevada hibridación entre las razas de carne, con una probabilidad posterior de 0,99 y un promedio de F_{st} (Índice de diferenciación genética) en la población de 0,1371 (13,7%), lo que confirma una alta variación genética entre las poblaciones analizadas.

INTRODUCCIÓN

El proceso constante de domesticación y mejoramiento genético de animales ha permitido la selección de fenotipos con mejores atributos que han formado una población en constante crecimiento. La variabilidad o diversidad genética hace posible la adaptación de los animales a enfermedades, parásitos, diversas condiciones climáticas, de alimentación y otros factores como las cambiantes exigencias del mercado (Mujica, 2005). La pérdida de la diversidad genética no sólo pone en riesgo la desaparición de ciertas razas tradicionales o nativas, sino que además limita los progresos del mejoramiento genético a desarrollarse en el futuro (Barker, 1999). La genética molecular ofrece actualmente una serie de herramientas que pueden aplicarse para facilitar la identificación y registro de individuos (Cornide, 2002), en la determinación del grado de consanguinidad (Wright, 1969) y diversidad genética existente entre y dentro de las distintas poblaciones animales, así como también en la estimación de las distancias genéticas (Nei, 1987; Weir, 1996; Beaumont et al., 1998) presentes entre las poblaciones animales y en la definición de sus orígenes y procesos evolutivos (Nagamine y Higuchi, 2001). Para el desarrollo y futuro de una industria animal altamente productiva y competitiva en el entorno mundial, la evaluación, el aprovechamiento y la conservación de la biodiversidad presente

en las poblaciones animales resulta fundamental. Por lo tanto, es importante establecer esquemas de evaluación sistemáticos de la capacidad productiva de las poblaciones locales, tanto en aquellas consideradas como razas exóticas, criollas o nativas. Esta información es crucial para la selección de los individuos que pueden formar parte de un futuro banco nacional de los recursos genéticos animales. En tal sentido, la explosión del conocimiento del genoma y las innovaciones tecnológicas que acompañan este conocimiento (marcadores moleculares) han abierto la posibilidad para la caracterización de la diversidad genética de poblaciones animales, y al mismo tiempo para la selección directa de animales que lleven la mejor combinación de genes, facilitando de esta forma las decisiones en programas de mejoramiento y selección de genotipos.

De esta forma, el objetivo de este estudio fue evaluar la diversidad genética y estructura poblacional de ocho genotipos de bovinos del Sur de Chile, empleando para ello un panel de 10 marcadores microsatélites específicos del bovino. La comparación de estos genotipos permitirá contribuir al conocimiento genético de la especie, aportando información sobre las variantes alélicas, genotípicas, heterocigosidad por locus, contenido de información polimórfica (PIC) y la estimación de la diversidad genética en poblaciones de ganado destinados a la producción de carne y leche. Con esta infor-

mación, se espera entonces establecer una base genética que permitirá la comparación de estas razas con otras razas que han sido o que están siendo actualmente introducidas en el país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo de animales

Se recolectaron 212 muestras de pelo correspondientes a animales de ocho genotipos bovinos de la Región de La Araucanía, Región de Los Lagos y Región de Aysén General Carlos Ibáñez del Campo, entre las que se incluyeron el Overo Colorado de Vilcún (OCV, 25 Animales), Overo Colorado de Coyhaique (OCC, 15 Animales), Clavel de Carne Chileno (CC, 18 Animales), Angus Rojo (AR, 16 Animales), Hereford (HERF, 27 Animales), Charoláis (CH, 20 Animales), Overo Negro (ON, 52 Animales) y Holstein Friesian (HF, 39 Animales). Los animales fueron debidamente identificados mediante el número de crotal asignado por el productor y un número de laboratorio correlativo asignado por el investigador. Las muestras de pelo (mayor a 20 unidades) se obtuvieron, con la ayuda de un alicate, directamente desde el lomo, cruz, flancos y/o paleta de animal, teniendo el cuidado de que contenga el folículo piloso que es donde se encuentran las células nucleadas y por lo tanto el ADN. Estas muestras fueron almacenadas en bolsas individuales de papel debidamente rotuladas y llevadas para su análisis al Laboratorio de Biotecnología Animal de INIA - Carillanca. Las muestras fueron conservadas a 4° C hasta su procesamiento.

Extracción del ADN a partir de muestras de pelo

El protocolo usado para este estudio fue establecido previamente en el Laboratorio de Biotecnología Animal de INIA - Carillanca. Se seleccionaron 10 pelos con folículo piloso visible de cada animal, los cuales se lavaron brevemente con agua destilada y se cortaron a 1 cm del bulbo. Estas muestras se dispusieron en un tubo Eppendorf, al cual se le agregaron 100 μ L de "tampón de lisis de pelo" (Tween 20 0,5 %, NP-40 0,6%, MgCl₂, 5 mM, Tris-HCL 10 mM, pH 8,3, KCl 50 mM) y 0,6 μ L de proteinasa K

(20 mg mL⁻¹). Las muestras se incubaron a 60°C por 1 h en un termomixer (Eppendorf) con agitación de 800 r.p.m. y luego durante 15 min a 99°C, para inactivar la proteasa. Antes de ser utilizada para su amplificación mediante PCR, se centrifugó la muestra por 2 min a 14.000 r.p.m., para separar las impurezas.

Elección de microsatélites y amplificación mediante la técnica de PCR

Para el análisis genético se utilizaron 10 microsatélites recomendados por la Sociedad Internacional de Genética Animal (ISAG; <http://www.isag.org.uk/>) (ETH3, TGLA122, TGLA227, BM1824, ETH10, ETH225, BM2113, INRA23, SPS115, TGLA126), los que fueron marcados con los fluoróforos Hex, Fam y Ned para su análisis en el secuenciador automático. Para el análisis de microsatélites se utilizó la técnica de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) la que permite amplificar grandes cantidades de una región particular de ADN, a partir de una pequeña cantidad original de ADN, gracias al uso de dos secuencias cortas e informativas de oligonucleótidos, denominadas "partidores" que son específicos de la región que se quiere amplificar. Estos microsatélites se amplificaron en tres reacciones múltiplex en un termociclador (Perkin Elmer modelo 9700), para evitar la manipulación de un mayor número de muestras, disminuyendo así el riesgo de contaminación. Cada reacción de PCR (volumen final 20 μ L) contenía entre 20 ng a 100 ng de ADN genómico, utilizado como templado, dNTPs 100 μ M, MgCl₂ 1,5 mM, partidores (0,1 mM a 0,3 mM dependiendo del partidor), tampón de PCR 1 X y 1 U de ampliTaQGold ADN polimerasa (Applied Biosystems). Las condiciones de reacción incluyeron una etapa inicial de denaturación del ADN por 5 min a 94°C, seguido de 35 ciclos de amplificación consistentes en: denaturación por 1 min a 94°C, hibridación por 1 min a 55°C (o 62°C dependiendo del partidor) y elongación por 1 min a 72°C, para terminar con una etapa de extensión de 10 min a 72°C.

Análisis de microsatélites en secuenciador automático

El análisis de los microsatélites amplificados por PCR se realizó mediante un secuenciador

automático de electroforesis capilar y detección fluorescente ABI PRISM 310 de Applied Biosystems. El sistema discrimina los fragmentos de ADN por tamaño y por la fluorescencia que emite el fluoróforo. Los resultados se analizaron por medio del software de análisis GeneScan (Applied Biosystems).

Análisis genético de los datos

Una vez recolectados los datos en el secuenciador ABI PRISM 310, se elaboró una planilla con el cual se incluyó la información de los tamaños y números de alelos obtenidos (genotipos) en los animales, para cada uno de los microsatélites analizados, agrupados de acuerdo a la raza de cada animal. En aquellos casos en que no se pudo disponer de información para un alelo determinado, se le asignó un valor arbitrario (9), valor que sería posteriormente interpretado por el Software de análisis, como dato perdido. La frecuencia alélica se calculó por conteo simple, mediante la división entre el número de alelos obtenidos y la sumatoria de éstos. La heterocigosidad (H) se estimó mediante la fórmula de Nei y Roychoudhry (1974), mientras que el PIC se calculó según la fórmula descrita por Botstein *et al.* (1980). Los datos poblacionales obtenidos fueron analizados mediante los programas Paup3.0 (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) y Structure 2.2. El programa Structure pone en práctica un método a base de modelo de agrupamiento para deducir la estructura de población usando datos genotípicos. Pritchard *et al.* (2000), y Falush *et al.* (2003). Sus aplicaciones incluyen la deducción de la presencia de poblaciones distintas, para asignar individuos a las poblaciones, estudiar y estimar frecuencia de alelos de la población en situaciones donde están muchos individuos mezclados. El programa PAUP3.0, fue elaborado por el profesor David L. Swofford (Laboratorio de Sistemática Molecular, Instituto Smithsonian Washington, DC). Incorpora la gran mayoría de los algoritmos para la elaboración de árboles genéticos y filogenéticos, según los criterios de distancia y parsimonia. Los datos analizados fueron previamente identificados por raza y número asignado por el investigador, los tamaños de alelos obtenidos para cada microsatélite, Las bandas fueron identificadas con un patrón de números

de acuerdo a la forma de codificación binaria 0, 1 y -, indicando para cada caso la presencia, ausencia o falta de dato, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Heterocigosidad y Contenido de información polimórfica (PIC)

En los 212 animales analizados se encontraron un total de 135 alelos para los 10 loci microsatélites empleados. Como se muestra en el Cuadro 1, todos los microsatélites analizados presentaron polimorfismo, variando el número de alelos por locus en la población entre 9 (SPS115) y 19 (TGLA122 e INRA23). En cuanto a los microsatélites con mayor polimorfismo presente entre las poblaciones, se puede destacar los microsatélites TGLA122 e INRA23 que presentaron entre tres a 10 alelos más que el resto de los microsatélites. La frecuencia alélica promedio encontrada en la población de las razas fue de 13,5 alelos por locus. Estos datos concuerdan con lo descrito por Brenneman *et al.* (2006), quienes encontraron un promedio de 12 alelos por locus en razas bovinas y se correlacionan con lo obtenido por otros autores con estos mismos microsatélites (Bedoya *et al.*, 2001; Zamora *et al.*, 2004). Mediante el genotipado de las diferentes razas analizadas se puede destacar que los valores de la heterocigosidad por locus varían entre 0,61 para el microsatélite SPS115 y 0,85 para el microsatélite TGLA227 (Cuadro 2). Estos datos se diferencian con los encontrados por Machugh *et al.* (1994), quienes obtuvieron valores de heterocigosidad comprendidos entre 0,55 y 0,80 en razas europeas bovinas, aunque en este caso, los autores emplearon un panel distinto de microsatélites. La heterocigosidad media de la población fue 0,73 (Cuadro 2), lo cual está dentro del rango de valores previamente publicados por Moazami-Goudarzi *et al.* (1997), quienes obtuvieron un valor de 0,70 utilizando 17 microsatélites en 10 razas de bovinos europeos. Por otro lado resulta superior al valor descrito por Del Bo *et al.* (2001), en un total de 13 razas europeas del área alpina. Valores similares fueron estimados por Zamorano *et al.* (1998), en la raza española berrenda en negro.

A nivel de raza, se puede observar en el Cua-

Cuadro 2. Heterocigocidad por locus (H) y contenido de información polimórfica (PIC) de 10 microsatélites en ocho poblaciones de ganado de carne del Sur de Chile.**Table 2. Heterozygosity (H) and polymorphic information content (PIC) from 10 microsatellites from eight populations of beef cattle of the South of Chile.**

Raza OCV	ETH3	TGLA122	TGLA227	BM1824	ETH10	Marcadores ETH225	BM2113	INRA23	SPS115	TGLA115	PROMEDIO
H	0.82	0.87	0.85	0.72	0.74	0.80	0.81	0.78	0.49	0.67	0.76
PIC	0.80	0.86	0.84	0.68	0.71	0.78	0.78	0.76	0.47	0.64	0.73
OCC	ETH3	TGLA122	TGLA227	BM1824	ETH10	ETH225	BM2113	INRA23	SPS115	TGLA115	PROMEDIO
H	0.65	0.76	0.99	0.68	0.81	0.76	0.76	0.73	0.69	0.61	0.74
PIC	0.61	0.73	0.99	0.62	0.78	0.73	0.73	0.70	0.65	0.56	0.71
CC	ETH3	TGLA122	TGLA227	BM1824	ETH10	ETH225	BM2113	INRA23	SPS115	TGLA115	PROMEDIO
H	0.79	0.81	0.85	0.66	0.70	0.79	0.86	0.84	0.56	0.74	0.76
PIC	0.77	0.78	0.83	0.63	0.66	0.76	0.85	0.82	0.54	0.70	0.73
AR	ETH3	TGLA122	TGLA227	BM1824	ETH10	ETH225	BM2113	INRA23	SPS115	TGLA115	PROMEDIO
H	0.80	0.64	0.82	0.71	0.62	0.69	0.80	0.83	0.80	0.67	0.74
PIC	0.77	0.61	0.79	0.66	0.58	0.64	0.77	0.81	0.78	0.64	0.71
HERF	ETH3	TGLA122	TGLA227	BM1824	ETH10	ETH225	BM2113	INRA23	SPS115	TGLA115	PROMEDIO
H	0.42	0.76	0.89	0.90	0.77	0.81	0.80	0.41	0.84	0.61	0.72
PIC	0.38	0.73	0.88	0.89	0.74	0.78	0.78	0.39	0.83	0.53	0.69
CH	ETH3	TGLA122	TGLA227	BM1824	ETH10	ETH225	BM2113	INRA23	SPS115	TGLA115	PROMEDIO
H	0.76	0.64	0.75	0.78	0.10	0.80	0.80	0.76	0.64	0.59	0.66
PIC	0.72	0.58	0.72	0.75	0.09	0.77	0.77	0.74	0.61	0.56	0.63
ON	ETH3	TGLA122	TGLA227	BM1824	ETH10	ETH225	BM2113	INRA23	SPS115	TGLA115	PROMEDIO
H	0.70	0.76	0.79	0.62	0.83	0.74	0.79	0.81	0.45	0.48	0.70
PIC	0.66	0.73	0.77	0.57	0.81	0.70	0.76	0.79	0.42	0.44	0.67
HF	ETH3	TGLA122	TGLA227	BM1824	ETH10	ETH225	BM2113	INRA23	SPS115	TGLA115	PROMEDIO
H	0.72	0.85	0.89	0.81	0.56	0.81	0.70	0.78	0.39	0.68	0.72
PIC	0.67	0.84	0.88	0.78	0.52	0.78	0.66	0.74	0.36	0.64	0.69
Heterocigocidad Media de la Población				0,73							
Rango de Heterocigocidad por Marcador				0,61-0,85							
PIC Promedio				0,70							
Rango de PIC por Marcador				0,58 - 0,84							

dro 2 que la heterocigosidad promedio varió entre los rangos 0,66 en la raza CH y 0,76 en las razas OCV y CC, de lo cual se puede inferir que probablemente no existirían problemas de consanguinidad en los grupos de animales estudiados. Con respecto al PIC (contenido de información polimórfica), índice que evalúa la informatividad de cada microsatélite en la población de acuerdo a las frecuencias de sus alelos, se puede observar que todos los loci estudiados fueron altamente informativos, encontrándose rangos entre 0,58 para el marcador SPS115 y 0,84 para el marcador TGLA227, con un pro-

medio de la población de 0,70 (Cuadro 2).

Análisis de parsimonia

De acuerdo al análisis de parsimonia (Figura 1), se pudo establecer que los animales tienden a agruparse en relación a su respectiva raza, formando clusters o grupos. Sin embargo, se encontraron grupos o clusters conformados por individuos pertenecientes a distintas razas de bovino. Un aspecto interesante de destacar es que las razas específicas de carne; AR, CH, HERF y un grupo de animales CC, se encuentran concentradas en un gran cluster o grupo,

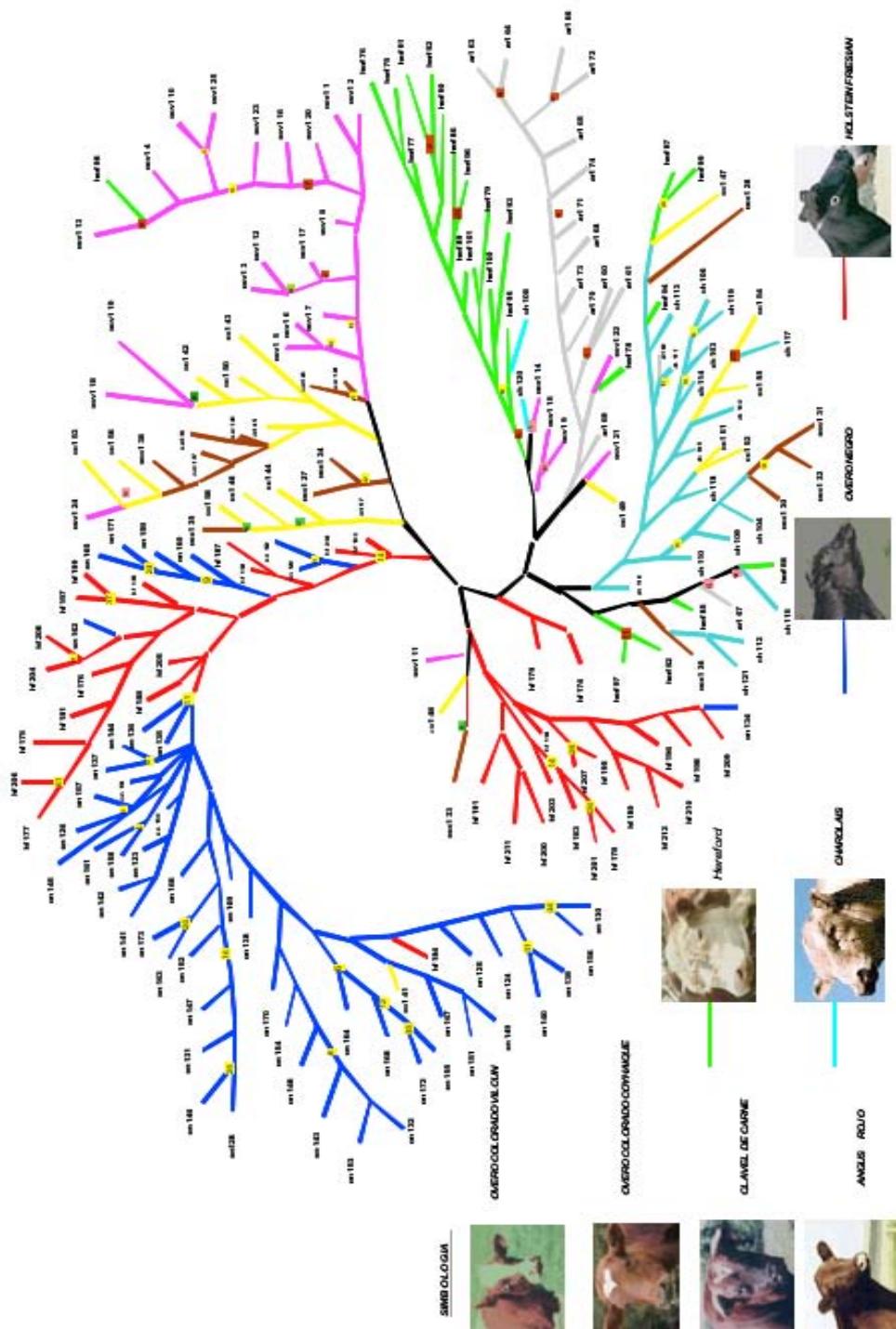


Figura 1. Dendrograma de siete razas de ganado bovino del Sur de Chile.
 Figure 1. Dendrogram of seven races of cattle from the South of Chile.

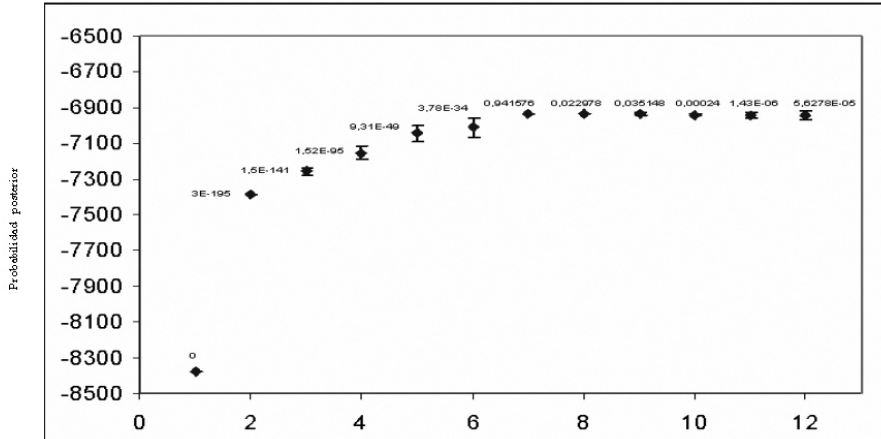


Figura 2. Análisis de probabilidad posterior de K (subpoblaciones) de toda la población, incluyendo razas de doble propósito.

Figure 2. Probability analysis of subsequent K (subpopulations) for the entire population, including dual-purpose breeds.

el cual se diferencia notoriamente del resto de las razas, tales como HF, ON, OCV y OCC, las cuales tienen una tendencia o especialización hacia la producción de leche. Uno de los grupos con mayor grado de pureza en la muestra correspondió al AR, el cual a excepción de dos animales (AR 162 y AR 169), concentró la mayoría de los animales en un único cluster, que a su vez se encontraba claramente diferenciado del resto.

animales empleando el programa Structure, indicó que el número de subpoblaciones que mejor explicaría el patrón genético presente en las razas de bovinos evaluadas fue K=7 (Probabilidad posterior=0,94; Figura 2). Las subpoblaciones encontradas correspondieron, en general, a las razas incluidas en el análisis. Dado que el objetivo general de la investigación era entender la relación genética existente entre las razas de carne, el análisis de estructura poblacional fue repetido sólo en animales pertenecientes a las razas OC, CC, HERF, AR y CH (Figura 3). De acuerdo a este nuevo análisis, las probabilidades

Análisis de estructura poblacional

El análisis poblacional realizado a todos los

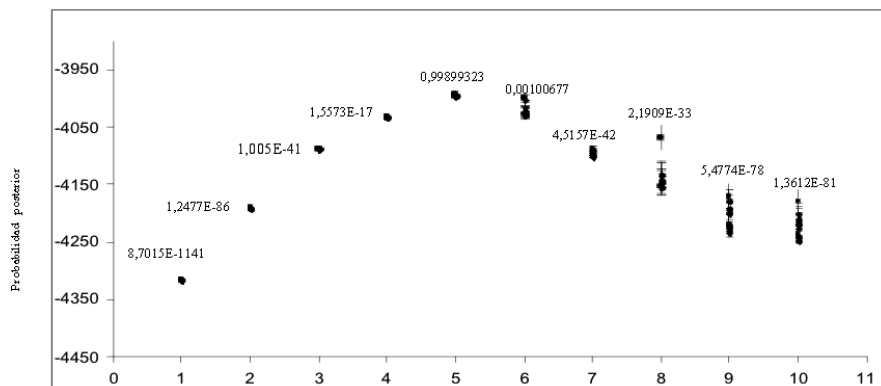


Figura 3. Análisis de probabilidad posterior de K en todas las poblaciones de carne, excluyendo las razas de doble propósito.

Figure 3. Probability analysis of subsequent K in all populations of meat herds, excluding dual purpose races

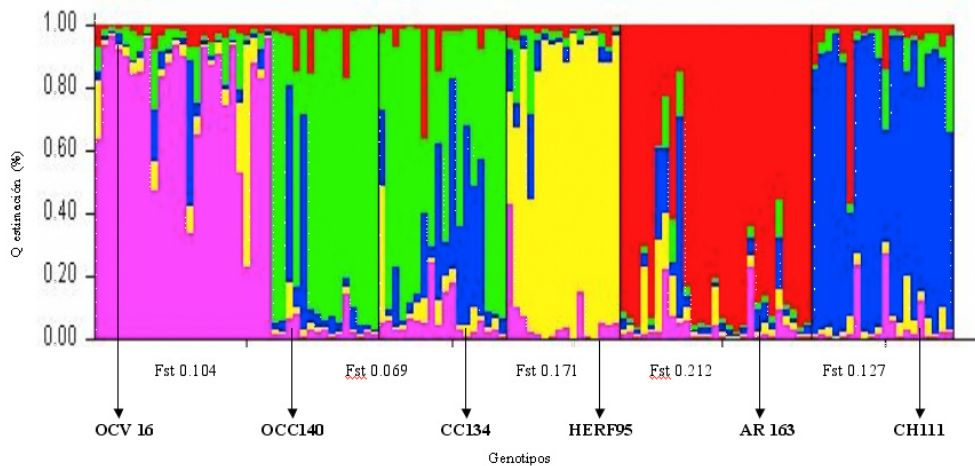


Figura 4. Análisis de estimaciones de Q en seis genotipos bovinos de carne de la zona Sur de Chile. Cada individuo es representado por una barra de colores divididos en K, según los cluster encontrados.
Figure 4. Analysis of estimates of Q in six genotypes of beef cattle in the South of Chile. Each individual is represented by a color bar divided into K, according to the clusters found.

de los datos aumentaron hasta $K = 5$ (0,999), estimándose por tanto cinco subpoblaciones para todos los individuos de carne analizados. De esta forma, las seis poblaciones incluidas en este estudio quedaron finalmente distribuidas en cinco clusters o grupos definidos por colores de acuerdo a la siguiente clasificación (Figura 4). En color rojo (Cluster 1) se incluyeron mayoritariamente animales de la raza AR, en verde (Cluster 2) animales de las razas OCC y CC, en azul (Cluster 3), animales de la raza CH, en amarillo (Cluster 4) animales de la raza HERF y finalmente en color rosado (Cluster 5) animales de la raza OCV. De acuerdo a este análisis, se pudo establecer la existencia de dos poblaciones de animales con un alto grado de pureza, correspondientes a las razas AR (Cluster 1) y HERF (Cluster 4), para las cuales el índice de diferenciación genética (Fst) obtenido fue de 0,212 y 0,171, respectivamente. De todas formas, en ambos grupos fue posible también observar animales con un alto grado de influencia de otras razas (>80%), principalmente de CH (Figura 4; barras de color azul en Cluster 1). Por otro lado, se encontró evidencia de panmixia en la población de animales del Cluster 2 (Fst 0,069), confirmando la alta variación genética existente entre los dos grupos de animales que constitu-

yeron este cluster, el cual quedó representado por las razas OCC y CC (Figura 4). En ambos grupos, es posible evidenciar una fuerte influencia de la raza CH (barras de color azul), siendo ésta influencia más fuerte en el CC, sugiriendo que la raza CH contribuyó de forma importante al establecimiento de la base genética, al menos en esta población de individuos analizados. Otro aspecto interesante del análisis, es que el grupo de individuos de la raza OCC quedó en un grupo claramente diferenciado del OCV, lo cual se puede explicar por la lejanía existente entre estos dos grupos de animales de la misma raza y a la nula relación genética de los ancestros que participaron seguramente en el establecimientos de ambos núcleos (Figura 4). El análisis evidenció la presencia de dos grupos de animales correspondientes a las razas OCV y CH, los cuales presentaron un grado intermedio de diferenciación genética (Fst 0,104 y 0,127), quedando representados por los Clusters 5 y 3, respectivamente (Figura 4). Finalmente, el promedio de Fst obtenido en la población fue de 0,137 (13,7%) lo que indicaría una variación genética entre las poblaciones analizadas. Estos datos concuerdan con estudios previos realizados en razas europeas donde se encontraron valores de diferenciación racial de 8% – 11%

(Mac Hugh et al., 1998, Kantanen et al., 2000, Cañon et al., 2001), aunque se diferencian claramente de un estudio realizado recientemente por Brenneman et al. (2006), quienes obtuvieron un valor promedio de F_{st} de 0,238 en cuatro razas bovinas (Angus, American Brahman, Senepol y Romosinuano).

CONCLUSIONES

La variabilidad genética estimada para los microsatélites permitió confirmar que dentro de los ocho genotipos estudiados existe polimorfismo, encontrando 135 alelos por locus para los 10 loci microsatelitales analizados, los que variaron según el número de alelos por locus en la población entre nueve para SPS115 y 19 para TGLA122 e INRA23, respectivamente.

Σ El análisis de parsimonia realizado permitió establecer que los animales tienden agruparse en relación a sus respectivas razas formando cluster o grupos claramente diferenciables entre sí. Además, el análisis reveló que las razas Overo Colorado de Vilcún y Overo Colorado de Coyhaique se encontraban en grupos diferenciados.

Σ Según la relación genética, se pueden destacar dos genotipos con un alto grado de pureza, las que corresponden a las razas Angus Rojo y Hereford, en los cuales se obtuvo un índice de diferenciación genética (F_{st}) de 0,212 y 0,171, respectivamente. Además, se encontró evidencia de panmixia en las razas Overo Colorado de Coyhaique y Clavel de Carne Chileno con una diferenciación genética (F_{st}) de 0,069, lo que indica la alta variación genética existente entre las poblaciones.

BIBLIOGRAFIA

- Baker, C.M.; Manwell, C. 1980. Chemical classification of cattle. I. Breed groups. *Animal Breeding* 11:127-150.
- Barker, J.S.F. 1999. Conservation of livestock breed diversity. *AGRI* 25:33-43.
- Beaumont, M.A.; Ibrahim, K.M.; Boursot, P.; Bruford, M.W. 1998. Measuring Genetic Distance. In Karp, A., Isaac, P.G.; Ingram, D.S. (eds.). *Molecular Tools for Screening Biodiversity: Plants and Animals*. London, Chapman and Hall. pp. 315-326
- Bedoya, G.; Carvajal, L.G.; Bermúdez, N.R.; Moreno, F.L. 2001. Estructura molecular y poblacional del ganado Criollo Colombiano (GCC). *Revista Colombiana Ciencia Pecuaria* 14:107-118.
- Brenneman, R.A.; Chase Jr, C.C.; Olson, T.A.; Riley, D.G.; Coleman, S.W. 2006. Genetic diversity among Angus, American Brahman, Senepol and Romosinuano cattle breeds. *Animal Genetics* 38:50-53.
- Botstein, D.; White, R.L.; Skolnick, M.H.; Davies, R.W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32:314-331.
- Buchanan, F.C.; Adams, L.J.; Littlejohn, R.P.; Maddox, J.F.; Crawford, A.M. 1994. Determination of evolutionary relationships among sheep breeds using microsatellites. *Genomics* 22:394-403.
- Cañon, J.; Alexandrino, P.; Bessa, I.; Carleos, C.; Carretero, Y.; Dunner, S.; Ferran, N.; Garcia, D.; Jordana, J.; Laloë, D.; Pereira, A.; Sanchez, A.; Moazami-Goudarzi, K. 2001. Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. *Genetics Selection and Evolution* 33: 311-332.
- Cornide, M.T. 2002. Marcadores moleculares: Nuevos horizontes en la genética y la selección de las plantas. La Habana, Cuba, Editorial. Félix Varela. 367p.
- Cushwa, W.T.; Medrano, J.F. 1996. Applications of the random amplified polymorphic DNA (RAPD) assay for genetic analysis of livestock species. *Animal Biotechnology* 7(1):11-31.
- Cruz-Coke M. R. 2003. Valoración de trabajos clásicos en la historia de la genética. *Revista médica Chile* 131(2):220-224.
- Del Bo, L.; Polli, M.; Longeri, M.; Ceriotti, G.; Loofi, C.; Barre-Dirie, A.; Dolf, G.; Zanotti, M. 2001. Genetic diversity among some cattle breeds in the Alpine area. *Journal of Animal Breeding Genetics* 118:317-325.
- El Portal Veterinario de Chile. 2003a. Razas Charoláis. Disponible en <http://www.veternet.cl>. Leído el 17 de julio de 2007.
- El Portal Veterinario de Chile. 2003b. Razas Holando Europeo. Disponible en <http://www.veternet.cl>. Leído el 17 de julio de 2007.
- Falush, D.; Stephens, M.; Pritchard, J.K. 2003. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 164:1567-1587.

- Grosclaude, F. ; Aupetit, R. ; Lefebvre, J. ; Meriaux, J.C. 1990. Essai d'analyse des relations genetiques entre les races bovines françaises à l'aide du polymorphisme biochimique. *Genetics* 22:317-338.
- Gwakisa, P.S. ; Kemp, S.J. ; Teale, A.J. 1994. Characterization of zebu cattle breeds in Tanzania using RAPD markers. *Animal Genetics* 25:89-94.
- Kantanen, J.; Olsaker, I.; Holm, L. E.; Lien, S.; Vilki, J.; Brusgaard, K.; Eythorsdottir, E.; Danell, B.; Adalsteinsson, S. 2000. Genetic diversity and population structure of 20 North European cattle breeds. *Journal of Heredity* 91:446-457.
- Machugh, D.E.; Loftus R.T.; Bradley, D.G.; Sharpand, P.M.; Cunningham, P. 1994. Microsatellite DNA variation within and among European cattle breeds. *Proceeding Biological Sciences* 256(1345):25-31.
- MacHugh, D.E.; Loftus, R.T.; Cunningham, P.; Bradley, D.G.. 1998. Genetic structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellites markers. *Animal Genetics* 29: 333-340.
- Moazami-Goudarzi, K., Laloe, D.; Furet, J.P.; Grosclaude, F. 1997. Analysis of genotypic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Animal Genetics* 28:338-345.
- Mujica, F. 2005. Diversidad, conservación y utilización de los recursos genéticos animales en Chile. Instituto de investigación agropecuarias, Osorno, Chile. *Boletín INIA* N° 137. 124p.
- Nagamine, Y.; Higuchi, M. 2001. Genetic distance and classification of domestic animals using genetic markers. *Journal of Animal Breeding Genetics* 118:101-109.
- Nei, M.; Roychoudhry, A.K. 1974. Sampling variance of heterozygosity and genetic. *Genetics* 76:379-390.
- Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. New York, Columbia University Press, New York. 333p.
- Pritchard, J.K.; Stephens, M.; Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959.
- Scherf, B.D. 1995. *World watch list for domestic animal diversity*. 2nd Edition. Rome, FAO 37p.
- Smith, E.J.; Jones, C.P.; Bartlett, J.; Nestor, K.E. 1996. Use of randomly amplified polymorphic DNA markers for the genetic analysis of relatedness and diversity in chickens and turkeys. *Poultry Science* 75:579-584.
- Swofford, D.L. 2002. *PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods)*, Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphism markers. *Nucleic Acids Research* 12:4127-4138.
- Tuñón, M.J.; Gonzales, P.; Vallejos, M. 1989. Genetics relationship between 14 native spanish breeds of goats. *Animal Genetics* 20:205-217.
- Uribe, H.A.; Smulders, J.P. 2004. Estimación de parámetros y tendencias fenotípicas, ambientales y genéticas para características de producción de leche en bovinos overos colorados. *Archivo médico veterinario* 36:137-146.
- Van Zeveren, A.; Bouquet, Y.; Van Der Weghe, A.; Coppieters, W. 1990. A genetic blood marker study on four pig breeds. I. Estimation and comparison of within-breed variation. *Journal Animal Breeding Genetics* 107:04-112.
- Weir, B. S. 1996. Intraspecific differentiation. In Hills, D.N. (ed.). *Molecular Systematics*. 2nd edition, Sunderland, M.A. Sinauer Associates. pp 385-403.
- Wright, S. 1969. *Evolution and the genetics of populations. The theory of gene frequencies*, USA, University of Chicago Press. Vol. 2 266p.
- Zamorano, M.J.; Ruiter, J.; Rodero, J.A.; Vega-Pla, J.L. 1998. Análisis genético de marcadores microsatélites en dos poblaciones de la raza bovina Berrenda en Negro. *Archivos de Zootecnia* 47: 195-200.
- Zamora, M.; Ginés, R.; Afonso, J.M.; Reig, M.; García, L.; Zamorano, M.J. 2004. Caracterización genética de la raza bovina Canaria utilizando microsatélites: estudio preliminar. *Archivo Latinoamericano Producción Animal* 12:12-15.
- Zanotti, C.; Gandini, G.C.; Leone, P. 1990. Genetic variation and distances of five Italian native sheep breeds. *Animal Genetics* 21:87-92.

AGRO SUR

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

1. GENERALIDADES

La revista **Agro Sur** es una publicación científica, semestral publicada por la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile, que acepta trabajos de investigación **originales inéditos**, revisiones bibliográficas (generalmente por invitación) y notas técnicas. **AGRO SUR** publica temas relacionados con la Ciencia Agraria, Ciencia Pecuaria, Ciencia del Suelo, Ciencia de Alimentos y Economía Agraria, con un énfasis particular en Chile y América Latina.

Todos los artículos enviados para publicación serán examinados por el Comité Editorial para establecer si sus contenidos se ajustan a las especialidades de la revista. Después de este examen serán enviados a un mínimo de dos especialistas escogidos para su revisión crítica. El comité Editorial se reserva al derecho de publicar o rechazar un artículo de acuerdo a las consideraciones de los árbitros.

Se solicita a los autores enviar sus textos en papel en triplicado (original y dos copias) o via e-mail. Para simplificar la edición final de la revista y reducir hasta donde sea posible la cantidad de errores, los autores deben adjuntar al manuscrito final (una vez aceptado por el comité editorial) un disco de 3,5" con un archivo creado por un procesador de textos (Macintosh o PC). Se aceptan textos en formato ASCII o en Wordperfect o MS-Word. Se insta a los autores que entreguen cualquier tipo de figura (fotografías, gráficos o cuadros) en un formato similar. Los programas aceptados son todos aquellos que generan formatos intercambiables (Corel Draw, Aventaje, Canvas, Freelance, etc.)

Los autores deben señalar el programa que han utilizado para el texto y los gráficos, adjuntando copias de los mismos con una alta calidad de impresión.

2. IDIOMA

Se aceptan textos en español o inglés. Ambos deben ser adecuados en términos gramaticales y de estilo.

3. ORGANIZACIÓN DE UN TEXTO

Se solicita a los autores ceñirse a las siguientes reglas y a los ejemplos que se detallan.

3.1 Formato de Página

Los textos deben presentarse con letra Times New Roman, 12 cpi a espacio y medio en toda su extensión (inclusive) las notas a pie de página, referencias, cuadros, leyendas) en un papel que no exceda 30 cm de alto (A4 o 8.5" X 11") dejando un margen al lado izquierdo de 4 cm. El espacio y medio equivale a un máximo de 35 líneas por página.

3.2 Extensión del Texto

Los textos no deben exceder 21 páginas, incluyendo figuras y cuadros. Las notas técnicas se limitan a 6 páginas mecanografiadas inclusive ilustraciones.

Se publican, libre de cargo, todos aquellos textos que no excedan 10 páginas impresas. **Se cobrará a los autores de textos que requieren un espacio adicional de impresión un monto de US \$ 80 por cada página impresa.**

Los textos deben presentarse en el siguiente orden: título, nombre y apellido(s) del autor(s), dirección completa y dirección del contacto, título en inglés, palabras claves en inglés, resumen en inglés, palabras claves en español, resumen en español, texto principal, agradecimientos y bibliografía.

3.3 Material Introductorio

La primera página del texto debe contener los siguientes ítemes en la secuencia que se indica a continuación:

- Título en Español del trabajo con tantos términos significativos como sea posible, pero limitado a aproximadamente 12 palabras (Times New Roman 16 cpi en negrita).
- Nombres y apellidos completos de todos los autores en negrita.

Ej: Peter Seemann F.

- Las afiliaciones de los autores (sin abreviaciones) donde se ha originado la contribución con la dirección postal y electrónica.
- Título en Inglés
- Una lista de hasta 6 palabras claves en inglés. En lo posible, deben escogerse los términos contenidos en el «Multilingual Thesaurus of Geosciences», Ed. Pergamon.
- En una nota a pie de página se debe indicar cuando corresponda si el manuscrito se basa en una charla sostenida en una reunión u otro evento. En esta debe consignarse la fecha (el mes en letras), lugar y título de la reunión. También se coloca una nota a pie de página cuando la contribución se basa en una tesis o cualquier otra publicación.
- El texto continúa con un resumen en inglés. Este debe ser una concentración y condensación de la información esencial contenida en el texto principal con objetivos, métodos, resultados y conclusiones. Su extensión no debe sobrepasar 200 palabras. No se aceptará una repetición extendida del título del manuscrito para este resumen. A continuación se debe incluir otro resumen en español de la misma extensión precedido por sus respectivas palabras claves. Las notas técnicas no requieren de un segundo resumen.

3.4 División del Texto

Los textos se dividen en secciones y subdivisiones por títulos y subtítulos con un máximo de tres niveles de secciones. Para diferenciarlos, deben usarse **LETRAS MAYÚSCULAS** y en **negrita** para los de primer orden, letras minúsculas y en negrita para los de segundo orden y letras *minúsculas* y *cursivas* y en **negrita** para los del tercer orden, los títulos se ubican en el borde izquierdo de cada párrafo, y el texto continuará en la línea siguiente sin sangría. La separación de las divisiones y subdivisiones es de una línea en blanco. Todos los párrafos siguientes se inician después de una sangría de tres espacios.

Los nombres científicos de las especies botánicas o animales se escriben como sigue: la primera vez *Zea mays* y luego *Z. mays*.

3.5 Cantidades, Unidades, Abreviaturas, Nomenclatura,

Sólo deben utilizarse unidades SI (SI = Systeme international d'unités). Los datos que no son SI deben ser informados (en paréntesis, detrás de estos deben anotarse las unidades SI). Los símbolos y las abreviaturas que representan a variables, constantes, cantidades, propiedades etc. deben definirse en el texto en su primera ocurrencia.

3.6 Cuadros

Cada cuadro debe tener un comentario en el texto. Los cuadros serán numerados con números arábigos en la sucesión en que ocurren. Estos se imprimen en páginas adicionales (una página por cada cuadro) al final del texto. La posición del cuadro en el texto debe ser indicado por (Cuadro...) al medio de un espacio o línea adicional. Cada cuadro debe empezar con un título que empieza en negrita por, «**Cuadro 3:...**». El título de un cuadro debe describir en forma detallada su contenido. Este debe ser lo suficiente informativo para que se comprenda sin la necesidad del comentario en el texto. El título se escribe primero en español y luego en inglés. En la impresión final estos serán colocados por encima de cada cuadro. La posición deseada de un cuadro en el texto debe ser señalada

al medio de un espacio o línea adicional, con lápiz grafito.

El tamaño de los cuadros debe ser tal que puedan reproducirse directamente después de una reducción con una anchura final de 85 mm. Sólo en forma excepcional se imprimen tamaños mayores.

Las columnas y líneas de un cuadro deben ser rotuladas con la indicación de sus unidades cuando se informan de cifras. Las citas de un cuadro serán tratadas de la misma manera que las citas en el texto. Las notas a pie de página de un cuadro se incluyen con letras minúsculas en paréntesis y directamente por debajo de él.

3.7 Figuras

3.7.1 Comentarios Generales

En el texto debe haber un comentario por cada figura. **Las figuras se imprimen en blanco y negro a menos que circunstancias especiales exijan su uso en color. Si hay fotos en color los costos adicionales serán cubiertos por sus autores.**

Las figuras no deben exceder del tamaño de una hoja de papel del texto. Estas se imprimen en páginas separadas. Todas las figuras son numeradas con números arábigos, en la misma sucesión con la cual se comentan y aparecen en el texto. La posición de una figura en el texto debe ser señalada por (Figura...) al medio de un espacio o línea adicional con lápiz de grafito.

Cada figura debe estar acompañada con su título que empieza en negrita «**Figura 1:...**». Los títulos deben explicar en detalle las figuras y ser tan comprensibles que se expliquen por sí solos sin tener que consultar al texto. Los títulos se escriben en español e inglés. Los títulos de todas las figuras se deben escribir en una hoja separada. En la impresión final estos serán colocados por debajo de cada figura.

Las figuras con cifras deben ser rotuladas con sus unidades y leyendas. Además, debe adicionarse la información sobre las condiciones con las cuales se obtuvieron las cifras.

La calidad de las figuras debe ser tal que pueden reproducirse directamente después de una reducción con una anchura final de 85 mm. Sólo en forma excepcional se imprimen tamaños mayores. Los números, las letras y los símbolos deben ser lo suficientemente grandes para quedar con una altura mínima de 1.5 mm una vez reducido al formato de impresión.

3.7.2 Dibujos

Los dibujos originales deben ser impresos con una excelente calidad. **Las fotocopias de fotografías o dibujos no son convenientes para una reproducción.** Los símbolos especiales utilizados en un dibujo deben explicarse, cuando no se dispone de una tipografía especial.

3.7.3 Fotografías (medios tonos)

Las fotografías, vistas microscópicas u otros artículos deben ser enviadas como negativos. Cuando estos incluyen letras u otras marcas, es aconsejable cubrir la fotografía con un papel transparente que debe quedar firmemente adherido, sobre este se anotan las marcas en los sitios que deben ocupar en la impresión final. Los publicadores convertirán este arreglo en una figura que tiene las marcas directamente inscritas.

Sólo excepcionalmente se aceptarán reproducciones coloreadas cuando los árbitros y el comité editorial consideren que estos son necesarios. **Los autores deben pagar el costo adicional al incorporar fotografías o gráficos coloreados.**

3.8 Dibujos estructurales y ecuaciones matemáticas

Los dibujos estructurales de moléculas y las ecuaciones matemáticas complejas, se dibujan o escriben en los lugares donde corresponda en el texto. Estos se colocan en líneas separadas. Cuando estos se citan los dibujos estructurales o las ecuaciones pueden definirse con números arábigos doblemente subrayados en paréntesis y las ecuaciones con números arábigos en paréntesis en el lado derecho. Las letras griegas de las ecuaciones deben ser explicadas con un paréntesis doble en el margen

izquierdo del texto principal.

3.9 Agradecimientos

Los agradecimientos por un apoyo financiero, consejo u otros tipos de ayuda se efectúan al final del texto bajo el título «Agradecimientos»

3.10 Bibliografía

Las citas en el texto se señalan con el nombre del autor y el año de su publicación como: ... Montaldo (1962), Carrillo y Latrille (1987) y Pinto *et al.*, (1995, 1999); o: (Montaldo, 1962, Carrillo y Latrille, 1987; y Pinto *et al.*, 1995, 1999).

Las citas bibliográficas se escriben al final del texto en orden alfabético. Cada cita bibliográfica debe contener el nombre completo del autor o autores en mayúscula, año de publicación, título del artículo o libro, nombre de la revista, volumen y número de la página, de acuerdo a los modelos que se citan a continuación:

3.10.1 Artículos de revistas

AUTOR (ES). Año. Título del artículo. Título de la revista abreviado volumen (número): páginas.

ANDRADE, N.; VALENZUELA, E. 2002. Aserrín de pino pretratado con cepas fúngicas como sustrato para la producción de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Agro Sur* 30: 28-34.

McNAUGHT, K.; DOROFÄEFF, F.; KARLOVSKY, J. 1968. Effect of magnesium fertilizers and season on level of inorganic nutrients in pasture on Hamilton clay loam. *N. Z. J. Agric. Res.* 11: 533-550

LANE, M.A.; BALDWIN, R. L.; JESSE, B.W. 1995. Sheep rumen metabolic development in response to different dietary treatments. *J. Dairy Sci.* 78(Suppl. 1): 310.

Los títulos de las revistas pueden ser abreviados según la práctica de Chemical Abstracts. Una lista de títulos correctamente abreviados se encuentra en: *International Serials Catalogue, Part I* (ISBN 92-9027-004-7) publicado por the International Council of Scientific Unions Abstracting Board, 51 Boulevard de Montmorency, F-75016 Paris, Francia

3.10.2 Trabajos Inéditos

Los trabajos que son inéditos pueden ser citados cuando estos se encuentran aún en un proceso de revisión de una revista. En este caso se señala el nombre de la revista seguido por «en prensa». Sin embargo, esta práctica sólo es aceptable cuando el autor ya ha recibido pruebas de galera para este trabajo. En todas las otras referencias se señala como «trabajos inéditos» o «comunicación personal.»

3.10.3 Libros y Monografías

AUTOR (ES). Año. Título del libro; subtítulo (si es relevante). Edición (si no es la primera). Lugar de publicación, editorial. páginas. (Serie)

TERTIAN, R.; CLAISSE, F. 1990. Principios de análisis de fluorescencia de radiografía cuantitativo. 2ª Edición. Londres, Heyden. 385 p.

WALLACE, D.H.; YAN, W. 1998. Plant breeding and whole-system crop physiology; improving crop maturity, adaptation and yield. Wallingford, CAB International. 390 p.

FAO. 1992. Manual de Sistema de labranza para América Latina. Roma. 193 p. (Boletín de Suelos de la FAO 66)

HARTGE, K. H.; STEWART, B.A. 1995. Soil structure; its development and function. Advances in Soil Science. CRC Lewis Publishers, Boca Ratón, 424 p. Esta publicación no se puede citar como un todo ya que es una publicación seriada que contiene varios artículos escritos por diferentes autores. HARTGE y STEWART solo son los editores

3.10.4 Capítulos de libros

AUTOR (ES) del capítulo. Año. In: AUTOR (ES) (o compilador o editor) del libro. Título del libro; subtítulo (si es relevante). Edición (si no es la primera). Lugar de publicación, editorial. Páginas del capítulo. (Serie)

KHEHRA, A.S.; DHILLON, B.S.; MULTAN, D.S. 1997. Maize. In: Bahl, P.N.; Salimath, P.M.; Mandal, A. K. (eds.). Genetics, cytogenetics and breeding of crop plants. New Delhi, Oxford. Vol. 2, pp. 145-196.

COOPER, M.; FOX, P.N. 1996. Environmental characterization based on probe and references genotypes. In: Cooper, M.; Hammer, G.L. (eds.). Plant adaptation and crop improvement. Wallingford, CAB International. pp. 529-547.

3.10.5 Simposios, Conferencias, Reuniones y Congresos

AUTOR (ES) del capítulo. Año. In: Título de la conferencia, lugar, fecha. Lugar de publicación, editorial. Páginas del capítulo.

QUIÑONES, J. 1963. Control de las mastitis estafilocócicas. In: 5a Conv. Nac. Med. Vet. de Chile, Valdivia, Chile, pp. 97-100.†

JOSHI, B.C.; SINGH, D. 1979. Introduction of alien variation into bread wheat. In: Proceedings of the fifth International Wheat Genetics Symposium, New Delhi, feb. 23-28, 1978. New Delhi, Indian Society of Genetics and Plant Breeding.

3.10.6 Tesis

AUTOR (ES). Año. Título de la tesis. Tesis y grado. Lugar, Institución. páginas.

MORALES, M. A. 1997. Elementos de diagnóstico para evaluar el uso del suelo en una comunidad campesina. Tesis Magister Desarrollo Rural. Valdivia, Universidad Austral de Chile. 97 p.

GONZALEZ, V. 1995. Cuantificación de los efectos que determinan el comportamiento reproductivo en un rebaño lechero con parición estacional en la X Región. Tesis Magister en Ciencias. Valdivia, Universidad Austral de Chile. 136 p.

3.10.7 Publicaciones texto completo Internet

Se utiliza, según corresponda, como base los mismos elementos para citar libros, revistas, partes de libros, conferencias, tesis. Al final se debe registrar, entre paréntesis la dirección web y la fecha de consulta.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 2000. Nutrient requirements of beef cattle. 7 ed. Washington, D.C. '248 p. (Disponible en: <http://www.nap.edu/catalog/9791.html> , consultado el 22/04/2003).

CARRILLO LL., R.; PEREZ, H.; NEIRA, C. M. 2002. Comportamiento de oviposición de *Aegorhinus superciliosus* (Guerin) (Coleoptera: Curculionidae). *Agro Sur* 30(1). (Disponible en: http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-88022002000100006&lng=es&nrm=iso consultado el 22/04/2003).

4.LAS PRUEBAS DE IMPRESIÓN

Al primer autor (o el autor de contacto) se enviará una prueba de galera para que corrija los errores de la imprenta. No se pueden efectuar otros cambios a estas pruebas sin la autorización del editor de la revista.

Las galeras corregidas **deben ser devueltas dentro de un plazo de 15 días** por telefax, e-mail o correo urgente. En caso de sobrepasarse este tiempo, el comité editorial decidirá si publica el artículo sin las correcciones (declinando responsabilidad por los posibles errores que puedan permanecer) o devolver el artículo al autor(es).

5. SEPARATAS

La revista proporciona a los autores 10 separatas de los artículos, sin costo.

El costo de cada separata adicional es US\$ 2 más los costos de envío: US\$ 5 en Chile y US\$ 10 para otros países (Tipo de cambio \$ 500.- para el año 2008)

6. CORRESPONDENCIA

Toda correspondencia a AGRO SUR debe dirigirse a:

AGRO SUR
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad Austral de Chile
Casilla 567
VALDIVIA
CHILE
Tel. (56) 63-221656 Facsímil (56) 63-221460
E-mail: postgradoagrarias@uach.cl

7.DERECHO DE PROPIEDAD

La Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Austral de Chile, como editora responsable de la revista, reserva todos los derechos para una reproducción completa o parcial de los materiales publicados en AGRO SUR.

El derecho de reproducción de algún material está sujeto a los derechos de propiedad literaria los cuales pueden obtenerse a expensas de los autores, estos deben notificar a la oficina editorial de **AGRO SUR** que sus derechos han sido concedidos.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

1. GENERAL

The Journal **AGRO SUR** accepts original papers (research reports as well as invited literature reviews) and short communications. **AGRO SUR** publishes papers on Agricultural Science, Animal Sciences, Food Sciences and Soil Science, with particular emphasis on those referring to Chile and Latin America.

All articles sent for publication will be examined by the Editorial Board and, should they comply with the subject matter and conditions of the Journal, will be sent for critical review to a minimum of two specialists chosen by the editorial committee. This committee reserves the right to publish each article in accordance with the considerations of the reviewers.

Authors are requested to submit for review manuscripts in triplicate (original and two copies) or by e-mail. In order to simplify the production of the journal and, above all, to reduce as far as possible the number of errors, the final draft of the paper (once accepted by the editorial committee), should be submitted to the editorial committee on a 3,5 disk in a file created on a word processor (Macintosh or PC). Texts are accepted in ASCII format or in WordPerfect or MS-Word. Authors are likewise urged to deliver any figures (photographs, graphs or tables) in a similar format. The programs accepted are those which generate interchangeable formats (Corel Draw, Excel, Canvas, Freelance, etc.). Authors should, in any case, indicate the program used to prepare the text or graphs, and should enclose printed copies of the same, using high quality printing.

2. LANGUAGE

Manuscripts are accepted in English or Spanish. In both cases they must be correct in terms of grammar and style.

3. ORGANIZATION OF MANUSCRIPT

Authors are requested to adhere to the rules given below and to follow the examples in detail.

3.1 Typing

The entire manuscript must be typed (Times New Roman, 12 cpi) with double spacing (including footnotes, references, tables, legends) on paper not exceeding 30 cm in height (standard A4 or letter 8.5" X 11") leaving a 4 cm left-hand margin. One and a half spacing is equivalent to a maximum of 35 lines per page.

3.2 Length of manuscript

Papers should not exceed 21 typewritten pages, including figures and tables. Short Communications are limited to 6 typewritten pages including all illustrations. Only manuscripts not exceeding a final length of 10 printed pages are published free of charge. For papers requiring extra space, authors will be charged US \$ 80 per additional printed page.

English papers should be presented in the following order: title, initials and surname(s) of the author(s), complete address and contact information, title in Spanish, Spanish key words, abstract in Spanish, key words in English, abstract in English, introduction, material and methods, results, discussion, conclusions, acknowledgements, bibliography, tables and figures.

3.3 Introductory material

* The first page of manuscript should contain the following items in the sequence given below:

* The title in English of the paper with as many meaningful terms as possible, but limited to about 12 significant words (Times New Roman 16 cpi, bold).

* The forenames and names of all authors with every author in bold

* The affiliations of the authors (without abbreviations) where the contribution has originated including complete postal addresses and electronic mail.

Example Perter Seemann F.

* Title in Spanish

* A list of up to 6 key words in Spanish. Wherever possible, terms should be chosen from those contained in the «Multilingual Thesaurus of Geosciences», Ed. Pergamon.

* If the paper is based on a talk held as part of a meeting etc. a footnote must be given with the date (name of the month spelled out), place and title of the meeting. A note must also be given if the contribution is based on a thesis or any other publication.

* The manuscript should continue with an abstract that summarizes the contents of the paper. The abstracts should be a concentration and condensation of the essential information contained in the main text, covering objectives, methods, results and conclusions.

Its length should not exceed 200 words. An extended repetition of the title of the paper is not considered an abstract.

Before the main text, another abstract in English should be included preceded with the key words.

The Spanish abstract should include a Spanish title. For short Communications, abstracts are not required.

3.4 Division of text

Manuscripts should be divided into sections and subsections by headings and subheadings into a maximum of three levels of sections. To differentiate them, **CAPITAL BOLD LETTERS** should be used for the first order, **bold lower** case letters for the second and *italic bold lower case letters* for the third. All the paragraphs begin with three blank spaces.

The names of botanical and animal species in the manuscript should appear as in the following example: *Zea mays*.

3.5 Quantities, units, abbreviations, nomenclature

Only SI quantities and units are to be used (SI = Systeme International d'unités). If data with non-SI units are to be reported, they should be put in parentheses behind the corresponding data with SI units. Symbols and abbreviations used to represent variables, constants, quantities, properties etc. must be defined in the text at their first occurrence.

3.6 Tables

Every table must be referred to in the text. Tables are to be numbered with Arabic numbers in the sequence in which they occur. They are to be typed on extra pages (one table per page) at the end of the manuscript. In the text, the position at which a table belongs is to be marked by (**Table...**) in the middle of an extra line. Every table must begin with a caption that starts with, for example, "**Table 3:**.... The caption must explain in detail the contents of the table. As the table itself, it must be written so that it can be read and understood without reference to the text. The caption must be given in English and Spanish. In the final impression they will be placed above each table. Every column and every line of a table must be labeled unambiguously and indicate units wherever data are reported. References to a table are to be handled in the same way as references to the text. Footnotes to a table should be indicated by lower-case letters in parentheses and typed directly under the table.

3.7 Figures

3.7.1 General remarks

Every figure must be referred to in the text. Figures will be printed in black and white unless special circumstances demand the use of color and additional costs are covered by the authors.

Figures must be submitted in sizes that do not exceed the size of the manuscript paper. If they are

smaller than the manuscript paper, they should be pasted onto separate pages. All figures are to be numbered with Arabic numbers in the sequence in which they are cited. In the text, the position at which a figure belongs is to be marked by (**Figure...**) in the middle of an extra line. In the final impression these will be placed below each figure.

Every figure must be accompanied by a legend that begins with, for example, «**Figure 1...** The legend must explain in detail the contents of the figure and - as the figure itself - must be comprehensible without reference to the text. The legend must be given in English and Spanish. Legends are not to be typed under the figures, but should be on a separate page.

Particular care should be taken to ensure that figures reporting data are unambiguously labeled with regard to units and, in their legends, provide adequate information about the conditions under which the data were obtained. The quality of the figures should be such that they can be reproduced directly after reduction to 85 mm width. Larger sizes can be printed in exceptional cases only. Numbers, letters and symbols inscribed must be large enough to be still 1.5 mm high after the figure has been reduced to the printing format.

3.7.2 Diagrams

Diagrams must be submitted as original drawings on tracing paper or as excellent quality print-outs. Photographs or photocopies of drawings are in general not suitable for reproduction. Special symbols used in a diagram should be explained in the drawing rather than in the legend, as the typesetter may not have special symbols available.

3.7.3 Photographs (halftones)

Photographs of apparatus, microscopic views or other items are to be submitted as glossy prints. If letters or other markers are to be inscribed, it is advisable to cover the print with tracing paper that is firmly attached and to write the markers on that cover in the places which they should occupy in the print. The publishers will convert this arrangement into an illustration that has the markers directly inscribed. Color reproductions will be accepted exceptionally if this is considered necessary by the reviewers and by the editorial committee. The authors must pay the additional cost of incorporating color photographs or graphs.

3.7.4 Structural diagrams and mathematical equations

Structural diagrams of molecules as well as complex mathematical equations should be drawn or written in the manuscript at the places in which they belong. They should always stand-alone, i.e. occupy extra lines. If reference to them is made repeatedly, structural diagrams may be marked with doubly underlined Arabic numbers in parentheses and equations with Arabic numbers in parentheses in the right-hand margin.

Greek letters in equations should be explained by spelling out their names (alpha, beta, gamma etc.) in double parentheses in the left-hand margin of the manuscript.

3.9. Acknowledgements

Acknowledgements of financial support, advice or other kinds of assistance should be made at the end of the paper under the heading «Acknowledgements».

3.10 References

References in the main text are to be quoted as name and year of publication such as:... by Montaldo (1952), Carrillo and Latrille (1977) and Pinto *et al.* (1980,1984); or: (Montaldo, 1952, Carrillo and Latrille, 1977, Pinto *et al.*, 1980,1984).

Bibliographic references should be presented in a separate list at the end of the text, in alphabetical order. The final list of bibliographic references should show the full name of the author or authors in capital letters, year of publication, title of the article or book, name of the journal, volume and the

page numbers, in accordance with the models cited.

3.10.1 Journal articles

KRARUP, A.; FUENTES, R. 2000. Eficiencia de la asociación (Zea mays) Agro Sur 28: 71-80.
Titles of journals are to be abbreviated according to the practice of Chemical Abstracts. A list of correctly abbreviated titles is: International Serials Catalogue, Part I (ISBN 92-9027-004-7) published by the International Council of Scientific Unions Abstracting Board, 51 Boulevard de Montmorency, F-75016 Paris, France.

3.10.2 Unpublished work

Papers that are unpublished but have been submitted to a Journal may be cited with the journal's name followed by «in press». However, this practice is acceptable only, if the author has at least received galley proofs of his paper. In all other cases, reference must be made to «unpublished work» or «personal communication».

3.10.3 Books and monographs

TERTIAN, R.; CLAISSE, F. 1982. Principles of Quantitative X-Ray Fluorescence Analysis. London, ed. Heyden, 385 p.
HARTGE, K. H., STEWART B. A. 1995. Soil Structure. Its Development and Function. Advances in Soil Science. CRC Lewis Publishers, Boca Raton, 424 p.

3.10.4 Chapters from multi-author books

WOLD, S.; SJOSTROM, M. (1977): Chemometrics, Theory and Application. In Kowalski, B.R. (ed.). ACS Symposium Series. American Chemical Society, Washington, D. C., pp. 243-282.

3.10.5 Theses

MORALES, M. 1997. Elementos de diagnóstico para evaluar el uso del suelo en una comunidad campesina. Tesis Magíster Desarrollo Rural, Universidad Austral de Chile. 97 p.
3.10.6 Patents
MILLER, B. O, 1952: U.S. Pat. 2542356, Dow Chemical Comp.; Chem. Abstr. 51 (1961) 2870.

4. PROOFS

The corresponding author (or the first of the authors) will be sent a set of proofs to correct printer's errors. Changes cannot be made to the proofs without the authorization of the editorial office of the Journal.

Corrected proofs should be returned within 10 days by telefax, e-mail or express mail. In case of failure to comply with this deadline, the editorial team will decide whether to publish the article without corrections (declining responsibility for errors, which may remain) or to return it to the author(s).

5. REPRINTS

The journal can supply reprints. 10 reprints

The cost of one reprint is US \$ 2 plus mailing cost US \$5 in Chile and US \$ 10 other countries.

6. CORRESPONDENCE

All correspondence regarding **AGRO SUR** should be addressed to:

AGRO SUR

Facultad de Ciencias Agrarias

Universidad Austral de Chile

Casilla (P.O. box) 567

VALDIVIA

CHILE

Tel. (56) 63 221747 Fax (56) 63 221239

E-Mail: postgradoagrarias@uach.cl

7. COPYRIGHT

The Facultad de Ciencias Agrarias of the Universidad Austral de Chile, as the publisher of the Journal, reserves all rights for the complete or partial reproduction of the materials published in **AGRO SUR**. The right to reproduce material that is subject to copyright must be obtained by and at the expense of the authors, who should notify the editorial office of **AGRO SUR** that these rights have been granted.

