

DETERMINACIÓN MATERNA DEL CONTENIDO DE ACEITE EN SEMILLAS DE GIRASOL

MATERNAL DETERMINATION OF OIL CONTENT IN SUNFLOWER SEEDS

Pedro Alberto Haro Ramírez¹, María del Carmen Julia García² y M. Humberto Reyes-Valdés^{3*}

¹Instituto Tecnológico Agropecuario No. 21. Block 611, Km. 25 Carr. a San Ignacio Río Muerto. 85260, Valle del Yaqui, Sonora. ²Departamento de Ciencias Básicas y ³Departamento de Fitomejoramiento, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, 25315, Saltillo, Coah. Tel. 01(844) 411-0296, Fax 01(844) 411-0211.

*Autor para correspondencia (mhreyes@uaaan.mx)

RESUMEN

Se estudiaron dos materiales de girasol cultivado ('Primavera' y 'AN-3'), una subespecie silvestre (*Helianthus annuus* ssp. *texanus*, 'Ac8') de bajo contenido de aceite, así como sus cruzamientos inter-subespecíficos, con el fin de someter a prueba la suposición de que el contenido de aceite en la semilla tiene una determinación materna. Se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre aquenios procedentes de cruzamientos recíprocos, mientras que en los cruzamientos individuales el porcentaje de aceite no fue diferente ($P > 0.05$) del de sus progenitores maternos respectivos. En todos los casos, el contenido de aceite se redujo cuando el girasol silvestre actuó como hembra, lo que demuestra que el contenido de aceite en la semilla está determinado principalmente por herencia materna. Por tanto, la presencia de la subespecie silvestre cerca de los lotes de producción de girasol cultivado no afectaría el porcentaje de aceite en la semilla cosechada, el control de la polinización no es necesario.

Palabras clave: *Helianthus annuus*, girasol silvestre, aceite, determinación materna, interacción negativa.

SUMMARY

Two cultivated sunflowers ('Primavera' and 'AN-3'), a low oil content wild subspecies (*Helianthus annuus* ssp. *texanus*, 'Ac8') and their inter-subspecific crosses, were tested under the assumption that the oil content is maternally determined. Significant differences ($P \leq 0.05$) were found between achenes from reciprocal crosses, whereas in individual crosses the oil percentage was not different ($P > 0.05$) from their respective female parents. In all cases, the oil content was reduced when the wild sunflower was used as female parent, thus showing that seed oil content is mainly determined by maternal inheritance. Therefore, the presence of the wild subspecies close to production plots of cultivated sunflowers would not affect the oil percentage in the harvested seed, and pollination control should not be necessary.

Index words: *Helianthus annuus*, wild sunflower, oil, maternal determination, negative interaction.

INTRODUCCIÓN

El girasol cultivado (*Helianthus annuus* L.) es una de las principales especies anuales productoras de aceite en el mundo, junto con soya (*Glycine max* (L.) Merr.), canola (*Brassica rapa* L. y *B. napus* L.) y cacahuete (*Arachis hypogaea* L.) (Putt, 1997). Por ello, el mejoramiento y mantenimiento de altos porcentajes de aceite en los aquenios, llamados también "semillas", es un objetivo prioritario en el desarrollo de variedades de girasol.

Algunos atributos de la semilla, como tamaño y contenido de aceite, aun cuando son caracteres reproductivos de post-polinización normalmente se estudian como propiedades del genotipo materno al igual que cualquier otro tejido no reproductivo. Sin embargo, la cubierta seminal es producto directo del genotipo diploide materno, el endospermo (cuando presente) tiene dos dosis de genes maternos y una de genes paternos, y el embrión es un producto diploide de gametos maternos y paternos (Lynch y Walsh, 1997).

Un ejemplo del manejo del fenotipo de la semilla de girasol como producto del genotipo materno es el método de las reservas (Pustvoit, 1964), una estrategia clásica y sumamente exitosa de mejoramiento genético de girasol para concentración de aceite en la semilla. En este manejo no se contempla control de la polinización con fines de producción de semilla para evaluar su contenido de aceite, bajo la suposición de que el origen del polen no es importante. Al igual que el método de las reservas, los esquemas de selección recurrente de girasol se manejan bajo el mismo paradigma implícito: el contenido de aceite es una manifestación del genotipo materno. Hay ejemplos de investigación básica en girasol donde se aplica el mismo paradigma,

como el trabajo de Leon *et al.* (2003), quienes estudiaron el contenido de aceite de girasol en varias generaciones híbridas, sin mencionar algún control de la polinización para la producción de semilla.

El tratamiento del fenotipo de la semilla como producto del genotipo materno puede ser razonable, pero hay poco trabajo empírico al respecto (Lynch y Walsh, 1997). Dicha suposición se soporta por algunos estudios con cruza recíprocas entre líneas de alto y bajo contenido de aceite, como el trabajo en que Thompson *et al.* (1979) encontraron alta influencia materna en la concentración de aceite en la semilla. Un resultado similar en contenido de aceite se observó con el uso de dos ecotipos de *Arabidopsis* (Hobbs *et al.*, 2004). En un estudio con rábano silvestre (*Raphanus sativus* L.) se determinó que el donador de polen nunca contribuyó con más de 2 % a la variación en crecimiento del embrión y tamaño de la semilla (Nakamura y Stanton, 1989).

A diferencia del contenido de aceite, la determinación genética de las concentraciones de ácidos grasos no presenta un patrón de altos efectos maternos. En tres líneas mutantes de girasol se encontró que el genotipo del embrión determinó el contenido de ácido esteárico y palmítico, y que en todos los casos la F_1 fue intermedia con ausencia de efectos maternos (Miller y Vick, 1999). Respecto al ácido esteárico, Pérez-Vich *et al.* (2002) observaron determinación predominante del genotipo del embrión, un leve efecto materno y ausencia de efectos citoplásmicos. Se han observado resultados similares para otros ácidos grasos en otras especies (Narvel *et al.*, 2000; Rojas-Barros *et al.*, 2005). Esto indica que en el mejoramiento genético para balance de ácidos grasos debe tomarse en cuenta el efecto del donador de polen.

La prueba más concluyente para confirmar la suposición de la determinación materna en el contenido de aceite en girasol, la pueden dar los cruzamientos recíprocos entre materiales altamente contrastantes en concentración de aceite de la semilla. Puesto que este carácter ha sido incrementado mediante el mejoramiento genético, se pueden encontrar diferencias marcadas entre materiales cultivados y silvestres de girasol.

En este trabajo se analizaron cruza recíprocas entre materiales cultivados y una población silvestre de girasol (*Helianthus annuus* ssp. *texanus*, 'Ac. 8'), con el fin de probar la hipótesis de que la concentración de aceite en la semilla es un carácter determinado predominantemente por el genotipo materno.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material genético estuvo constituido por la variedad 'Primavera', la línea 'AN-3', (en sus modalidades androestéril y androfértil) desarrollada en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, y una población silvestre de *H. annuus* ssp. *texanus* recolectada en el norte de Saltillo, Coah., con clave 'Ac8' en la misma universidad, y cuyas semillas están actualmente preservadas en frascos cerrados herméticamente a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Los tres materiales se sembraron en campo de manera que se pudiera cosechar la semilla de cuatro plantas de cada tratamiento: variedad 'Primavera', línea 'AN-3', población silvestre 'Ac8', cruzamientos 'Primavera' x 'Ac8', 'Ac8' x 'Primavera', 'AN-3' x 'Ac8' y 'Ac8' X 'AN-3'. Cuando 'AN-3' se utilizó como hembra, se empleó en su versión androestéril. 'Primavera' y 'Ac8' se emascularon cuando se utilizaron como hembras. La semilla para evaluar a cada uno de los tres progenitores se obtuvo de cruzamientos fraternos. Todos los cruzamientos se realizaron mediante la aplicación de polen con brochas de franela, en tres ocasiones espaciadas uniformemente durante la floración de la planta hembra. Las inflorescencias de las plantas hembra y las plantas macho se mantuvieron tapadas con bolsas de papel desde el inicio de anthesis, con el fin de impedir la contaminación con polen extraño.

Para cada progenitor y cruza, la concentración de aceite en la semilla se evaluó en dos muestras por planta cosechada, de acuerdo con un esquema de evaluación con submuestreo en un arreglo completamente al azar. Se analizó la semilla de cuatro plantas por tratamiento, con excepción del cruzamiento 'Ac8' x 'Primavera', en el que solamente se dispuso de tres plantas. De las semillas molidas, el aceite se extrajo con un equipo soxhlet con éter etílico por 8 h y se cuantificó por el método gravimétrico.

Con los porcentajes de aceite transformados por la función $\text{ArcSen}\sqrt{P}$, donde P es el porcentaje de aceite dividido por 100, se hizo un análisis de varianza de acuerdo con un diseño completamente al azar con submuestreo (Cuadro 1). La normalidad del error experimental se corroboró mediante un gráfico QQ (cuantil-cuantil). Las diferencias entre pares de medias se analizaron con la prueba de Tukey (Lane, 2003). Los tratamientos se agruparon en cuatro tipos: girasol cultivado, girasol silvestre ('Ac8'), cruzamientos cultivado x silvestre y cruzamientos silvestre x cultivado, para examinar sus diferencias con la prueba de Tukey. Todos los análisis estadísticos se hicieron en el sistema R (R Development Core Team, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se detectaron diferencias significativas ($P \leq 0.01$) entre genotipos y entre plantas dentro genotipos (Cuadro 1). La heterogeneidad entre muestras de diferentes plantas de la misma clasificación obedeció probablemente a una mezcla de efectos ambientales y variación genética residual. Los valores medios de porcentaje de aceite no transformado para todos los materiales estudiados se anotan en el Cuadro 2.

Cuadro 1. Análisis de varianza para diferencias entre genotipos de girasol (*Helianthus annuus*) en cuanto a porcentaje de aceite transformado.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	Probabilidad de error Tipo I
Genotipos	6	0.220	0.0368	17.9	0.000**
Plantas/Genotipos	20	0.041	0.0021	124.7	0.000**
Error de muestreo	27	0.0004	0.00002		

** $\alpha > 0.01$; C V = 7.27 %.

Cuadro 2. Porcentajes medios de aceite y resultados de comparaciones múltiples en dos materiales cultivados de girasol ('AN-3' y 'Primavera'), una población silvestre ('Ac8') y cruzamientos inter-subespecíficos directos ('AN-3' x 'Ac8' y 'Primavera' x 'Ac8') y recíprocos ('Ac8' x 'AN-3' y 'Primavera' x 'Ac8').

Genotipo	Porcentaje medio de aceite [†]
'AN-3 x Ac8'	38.96 a
'AN-3'	37.47 a
'Primavera'	33.94 ab
'Primavera x Ac8'	29.47 b
'Ac8'	27.98 bc
'Ac8 x AN-3'	23.76 c
'Ac8 x Primavera'	22.43 c

[†]Letras iguales indican ausencia de diferencia significativa (Tukey, 0.05). DMS = 4.58, para datos transformados con seno inverso en grados.

Los mayores porcentajes de aceite se observaron en los genotipos cultivados y en los cruzamientos en que éstos participaron como hembras, con una media global de 34.96 %, y los menores en la población silvestre 'Ac8', así como en los cruzamientos en los que ésta actuó como hembra, con una media general de 24.72 %. Hubo diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre la línea 'AN-3' y la población silvestre 'Ac8', pero no entre 'Ac8' y 'Primavera', probablemente debido a que la muestra no fue lo suficientemente grande. No hubo diferencias significativas entre 'Primavera' y 'AN-3'.

En los dos tipos de cruzamientos entre girasol silvestre y girasol cultivado hubo diferencias significativas entre las cruza directas y las recíprocas, con el mayor porcentaje de aceite donde el progenitor materno fue girasol cultivado, con una media general de 34.22 %, a diferencia del promedio de 23.19 % de los cruzamientos con el girasol silvestre como hembra (Cuadro 3). En ningún caso se de-

tectaron diferencias significativas entre progenitores individuales y sus cruzamientos como hembra, tanto para los materiales cultivados como para el silvestre. Debido a que la línea 'AN-3' fue la más contrastante con la población silvestre, los resultados donde intervino este material son los más contundentes. Estos resultados indican que el determinante mayor en el porcentaje de aceite de la semilla es el genotipo materno, y no proveen evidencia de efecto del polen de la planta donadora, lo cual coincide con lo reportado en la literatura para contenido de aceite en otras especies, incluido el girasol (Thompson *et al.* 1979).

Cuadro 3. Porcentajes medios de aceite y resultados de comparaciones múltiples en materiales agrupados de girasol cultivado, una población silvestre ('Ac8') y cruzamientos inter-subespecíficos directos y recíprocos.

Genotipo agrupado	Porcentaje medio de aceite [†]
Cultivado	35.70 a
Cultivado x Silvestre	34.22 a
Silvestre	27.98 b
Silvestre x Cultivado	23.19 c

[†]Letras iguales indican ausencia de diferencia significativa (Tukey, 0.05): DMS = 2.44 para datos transformados con seno inverso en grados.

En los tratamientos (Cuadro 3) no hubo diferencias significativas entre girasoles cultivados y las cruza donde participaron como hembras, pero sí entre el material cultivado y el girasol silvestre ('Ac8'). Este análisis también reveló diferencias significativas en general entre la población 'Ac8' y los cruzamientos donde participó como hembra, los cuales mostraron una reducción en el porcentaje de aceite. Similarmente, en un estudio realizado en *Arabidopsis*, Hobbs *et al.* (2004) encontraron un fuerte efecto materno con interacción negativa para contenido de aceite.

Los resultados de este trabajo coinciden en general con otras investigaciones en cruza recíprocas para contenido de aceite, en el sentido de que el genotipo materno es el mayor determinante. Una explicación a este fenómeno es que los genes que controlan el contenido de aceite pueden estar actuando maternalmente debido al aporte de carbono o de factores reguladores hacia la semilla (Hobbs *et al.*, 2004).

CONCLUSIONES

El porcentaje promedio de aceite en los materiales cultivados de girasol (35.70 %) fue significativamente mayor que el de la población silvestre (27.98 %), diferencia que es atribuible al mejoramiento genético. Las pruebas con cruza recíprocas indicaron que el contenido de aceite es un carácter determinado predominantemente por el genotipo materno, con la presencia de interacciones negativas en cruzamientos donde el girasol silvestre interviene como hembra, por lo que el donador de polen no es lo suficientemente relevante para influir en dicho contenido. También

se infiere que la presencia de girasoles silvestres adyacentes a campos de producción o evaluación, no afectarán el porcentaje de aceite en la semilla, aun cuando tienen la posibilidad de fertilizar a los girasoles cultivados.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

BIBLIOGRAFÍA

- Hobbs D H, J E Flinham, J H Matthew (2004)** Genetic control of storage oil synthesis in seeds of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 136:3341-3349.
- Lane D M (2003)** Hyperstat online textbook. Rice Virtual Lab in Statistics. <http://davidmlane.com/hyperstat/index.html> (10 de enero de 2006).
- Leon A J, F H Andrade, M Lee (2003)** Genetic analysis of seed-oil concentration across generations and environments in sunflower. *Crop Sci.* 43:135-140.
- Lynch M, B Walsh (1997)** *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Associates, Inc. Massachusetts, USA. 980 p.
- Miller J F, B A Vick (1999)** Inheritance of reduced stearic and palmitic acid content in sunflower seed oil. *Crop Sci.* 39:364-367.
- Nakamura R R, M L Stanton (1989)** Embryo growth and seed size in *Raphanus sativus*: maternal and paternal effects *in vivo* and *in vitro*. *Evolution* 43:1435-1443.
- Narvel J M, W R Fehr, J Ininda, G A Welke, E G Hammond, D N Duvick, S R Cianzio (2000)** Inheritance of elevated palmitate in soybean seed oil. *Crop Sci.* 40:635-639.
- Pérez-Vich B, R Garcés, J M Fernández-Martínez (2002)** Inheritance of medium stearic acid content in the seed oil of a sunflower mutant CAS-4. *Crop Sci.* 42:1806-1811.
- Pustvoit V S (1964)** Conclusions of work on the selection and seed production of sunflowers. *Agrobiologia* 5:672-697.
- Putt E D (1997)** Early history of sunflower. *In: Sunflower Technology and Production*. A A Seneiter (ed). ASA, CSSA, SSA. USA. pp:1-19.
- R Development Core Team (2004)** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <http://www.R-project.org> (18 de mayo de 2006).
- Rojas-Barros P, A de Haro, J M Fernández-Martínez (2005)** Inheritance of high oleic/low ricinoleic acid content in the seed oil of castor mutant OLE-1. *Crop Sci.* 45:157-162.
- Thompson T E, G N Fick, J R Cedeno (1979)** Maternal control of seed oil percentage in sunflower. *Crop Sci.* 19:617-619.