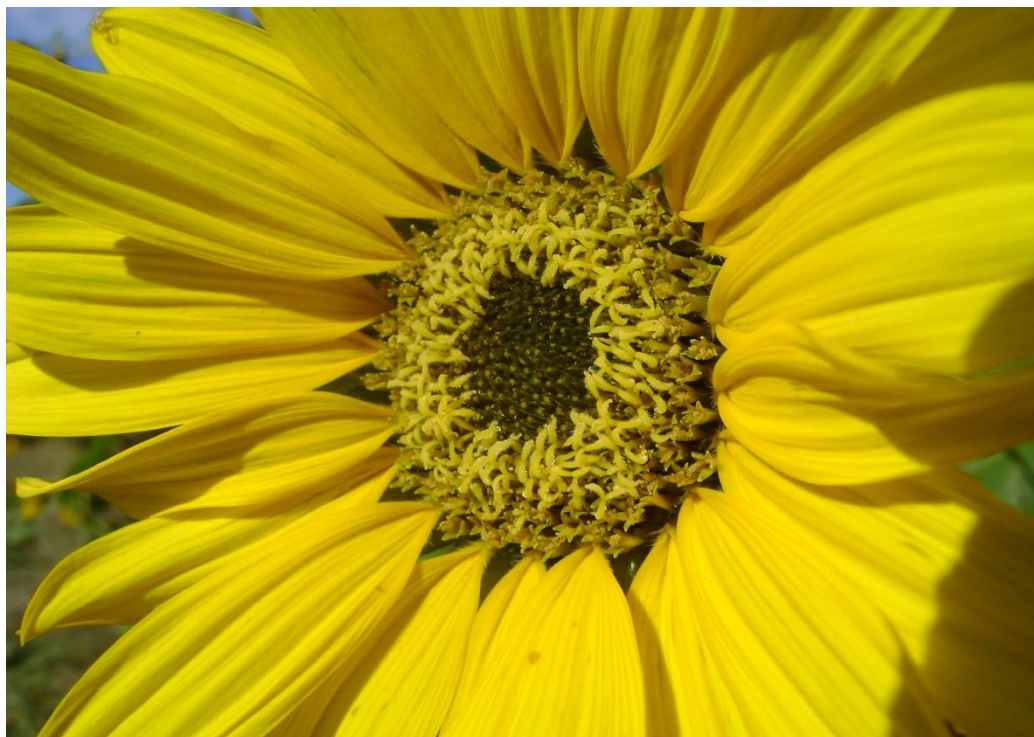

Caracterización morfológica de una accesión de girasol
silvestre (*Helianthus annuus L.*) con presencia de
androesterilidad



Departamento de Agronomía

Universidad Nacional del Sur

2023

Alumno: Daniel Jesús Girón

Docente tutor: Dr. Alejandro Presotto.

Docentes Consejeros: Dra. Maria Soledad Ureta.

Dra. Alicia Delia Carrera.

Asesor Externo: Dr. Antonio Garayalde.



Agradecimientos

Quiero agradecer a mis padres Máximo Girón y María Cristina Ayarde por el apoyo incondicional durante el cursado de la carrera.

A mis hermanos Diego, Victoria, Javier Y Nadia.

A Dr. Alejandro Pressoto, Dra. María Soledad Ureta y Alicia Delia Carrera por su predisposición y aportes.

Al Dr. Antonio Garayalde y su esposa Dra. Lorena Armando por el acompañamiento durante estos años.

A los compañeros que hice durante toda mi instancia en la Universidad.

A la Universidad Nacional Del Sur por recibirme y formarme en esta hermosa carrera.

A todos ellos gracias por participar en esta hermosa etapa de mi vida.

Contenido

Agradecimientos	2
Índice de tablas.....	3
Índice de figuras	3
Índice de imágenes	4
Índice de tablas de anexo	4
Resumen.....	5
Introducción	6
Obtención de híbridos.....	9
Resultados y Discusión	18
Conclusiones.....	22
Bibliografía.....	23
ANEXO: DESCRIPCION MORFOLOGICA, FENOLOGICA Y SANITARIA DEL CULTIVAR.....	25

Índice de tablas

Tabla 1 Descriptores métricos y categóricos empleados en la caracterización morfológica de <i>Helianthus annuus</i>	17
Tabla 2. Valores promedios de las variables medidas durante el ciclo del cultivo para cada uno de los materiales y test de comparación de media a pares (Tukey $P < 0.05$)	19

Índice de figuras

Figura 1. Principales productores de girasol en el mundo durante la campaña 2022-23.	6
Figura 2. Evolución de la producción nacional de girasol entre 2017 y 2022.....	7
Figura 3. Obtención de un híbrido simple a partir de tres líneas endocriadas. Línea A (Androestéril), Línea B (Mantenedora) y línea R (Restauradora).....	10
Figura 4. Ubicación de la población Las Malvinas, en la provincia de Mendoza.	12
Figura 5. Esquema de la accesión y progenies descriptas.	13
Figura 6 :Análisis de componentes de las variables cuantitativas de la accesión (LMAMS), Línea androestéril mantenida por R049 mantenedor (LMAMS X 3R409) y los restauradores (R049 X LMAF3F6 y R432 X LMAF5F6).....	20

Índice de imágenes

Imagen 1. Vista de la planta de girasol (izquierda), partes de la inflorescencia (arriba y derecha), y partes del fruto (abajo y derecha).....	8
Imagen 2 . Vista de un lote de producción de semilla híbrida de girasol en la colonia San Adolfo, Partido de Villarino. Se observan líneas androestériles (Parental femenino) y líneas restauradoras (Parental masculino).	11
Imagen 3: Población silvestre de <i>H. annuus</i> en la localidad de Las Malvinas, Mendoza (izquierda) y vista de un capítulo de una planta androestéril de esta población ”	12
Imagen 4. Ubicación del Departamento de Agronomía. Universidad Nacional del Sur.	14
Imagen 5. Ubicación del jardín común en el predio de Agronomía en la Universidad Nacional del Sur.	15
imagen 6. Vista del ensayo jardín común en el Departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur. La primera hilera corresponde a la accesión LMAMS X 3*R049.	16

Índice de tablas de anexo

Tabla A 1. Descripción enológica.....	26
Tabla A 2. Tabla de descripción morfológica del cultivar.....	30

Resumen

El cultivo de girasol (*Helianthus annuus L.*) ocupa el tercer lugar en la producción mundial de aceite, luego de la soja y la colza con una producción mundial de granos de alrededor de 50 millones de toneladas. El descubrimiento de la androesterilidad citoplasmática por Leclercq en Francia en 1968 (CMS-PET1) fue decisivo en la expansión y desarrollo tecnológico del cultivo y producción de semilla híbrida. Sin embargo, la utilización de una única fuente de androesterilidad implica un riesgo potencial por la vulnerabilidad debido a la estrecha base genética. En febrero de 2003 se recolectaron semillas de una población de girasol silvestre localizada en Las Malvinas, provincia de Mendoza. Semillas de esta población fueron sembradas en un jardín común donde se encontraron dos ejemplares androestériles. La morfología del polen, marcadores moleculares y cruces controladas con líneas mantenedoras y restauradoras demostraron que la fuente de androesterilidad de la población LMAMS era diferente a la CMS-PET1. En el periodo 2012/2013 se evaluaron individuos de las siguientes accesiones: plantas silvestres androestériles provenientes de las Malvinas cruzadas con plantas hermanas (LMAMS); otro material androestéril obtenido a partir de cruces de la población LMAMS retrocruzada con una la línea R049 que actuó como mantenedora; dos líneas restauradoras R049*LMFA y R432*LMAF de la nueva fuente originadas en el cruzamiento de materiales cultivados con el polen de plantas silvestres. Los individuos de estas accesiones se trasplantaron a un jardín común. Durante el ciclo de desarrollo hasta la cosecha se emplearon 34 descriptores morfológicos para caracterizar a cada una de las cuatro líneas. Se observó que las accesiones LMAMS y LMAMS*3R049 coincidieron en cuanto altura y tamaño de hojas. A su vez, LMAMS tuvo menor número de hojas y menor frecuencia de plantas androestériles. Las líneas restauradoras fueron de menor altura y tamaño de hojas, filarias más finas, mayor diámetro del capítulo principal, mayor tamaño de flores liguladas en comparación a las androestériles. Solo estas líneas presentaron pigmentación en las lígulas y antocianinas en las paleas. Este germoplasma es de potencial utilidad en los programas de mejora de girasol y por ello, esta información es fundamental para su ingreso en el banco activo de germoplasma de Manfredi.

Introducción

El género *Helianthus* pertenece a la familia de las Asteráceas y es originario de Norteamérica. Cuenta con alrededor de 50 especies entre anuales o perennes. Dentro de este grupo se encuentra la especie *Helianthus annuus* L., antecesora del girasol (Poverene et al, 2002). El girasol cultivado (*Helianthus annuus* var. *macrocarpus*) fue domesticado en el este de Estados Unidos e introducido en Europa en el siglo XVI por los españoles con fines ornamentales. En el siglo XVIII ingresa a Rusia donde se llevó a cabo una fuerte selección para aumentar la producción de aceite y desde ahí se dispersó por el mundo (ASAGIR, 2021).

Actualmente el girasol es uno de los cuatro cultivos oleaginosos más importantes del mundo, con una producción global que alcanza 50.4 millones de toneladas. Argentina se encuentra entre los principales países productores de girasol, ubicándose como el cuarto productor y exportador mundial de aceite (USDA, 2023).

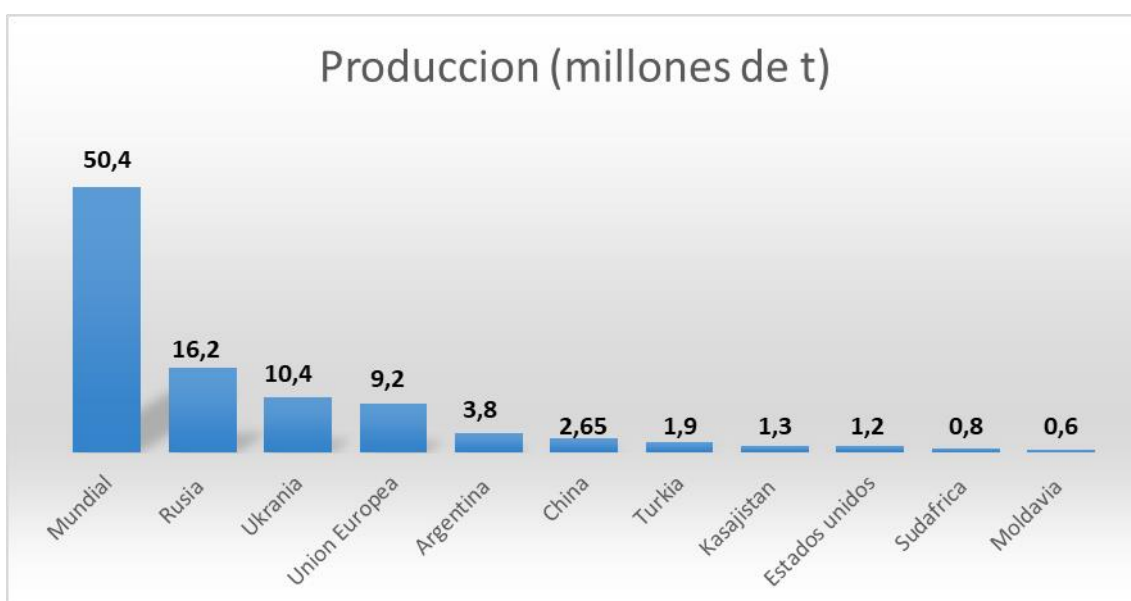


Figura 1. Principales productores de girasol en el mundo durante la campaña 2022-23.

En Argentina, el cultivo se introdujo durante el siglo XIX, por colonos de origen hebreo que se establecieron en las provincias de Entre Ríos, Santa Fe y Buenos Aires. Su difusión, como cultivo, comienza en forma casi simultánea, en la Colonia Mauricio, partido de Carlos Casares, en el oeste de la Provincia de Buenos Aires y en Basavilvaso, provincia de Entre Ríos a partir de 1900 (ASAGIR, 2021). Hasta 1928 fue un cultivo de consumo familiar en forma tostada, y su uso perdura. También se empleó como planta ornamental y alimento para aves. Hacia 1930 empieza su avance como cultivo oleaginoso. Los primeros datos oficiales son de la campaña 28/29 con 400 ha, dos décadas después se registró una superficie sembrada con 1.800.000 ha. En 1938,

Enrique Klein obtiene la Variedad KLEIN, como resultado de la selección de una población que alcanzó un 39 % de aceite. En los años 1950 y 1960 se reduce drásticamente la superficie sembrada debido a la presencia de enfermedades y bajos precios recibidos por el productor. El mejoramiento genético entre los años 1960 y 1975 permitió hacer frente a las enfermedades y recuperar parte de la superficie sembrada. En 1960 El instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) obtiene su primera variedad Manfredi INTA siendo esta resistente a roya, pero presentaba problemas de uniformidad y facilidad en desgrane. En 1962 surgen Guayacán, Cordobés, Pehuén e Impira. Esta última tenía altos rendimientos y resistencia a la roya, pero con bajos rindes en aceite. En 1982 se crea la Asociación Argentina de Girasol (ASAGIR) que tiene como objetivo desarrollar la competitividad dentro del complejo aceitero argentino y su internacionalidad (ASAGIR 2021; Ingaramo et al, 2008).

En los últimos años, la producción nacional ha rondado los 3,4 millones de toneladas en una superficie promedio de 1,6 millones de hectáreas (Figura 2). Cerca de la mitad de producción nacional es originaria de la provincia de Buenos Aires, las demás áreas se encuentran en Chaco, norte de Santa Fe, Santiago del Estero y, este de La Pampa (ASAGIR 2021).

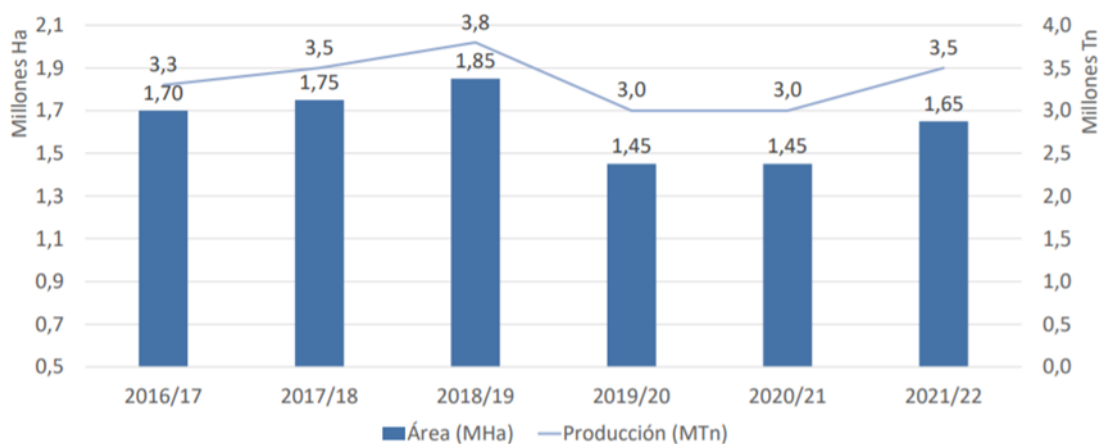


Figura 2. Evolución de la producción nacional de girasol entre 2017 y 2022.

La planta de girasol

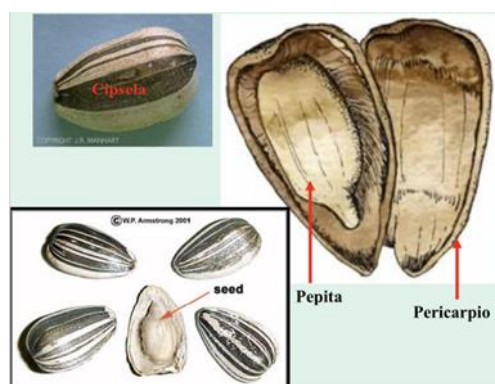
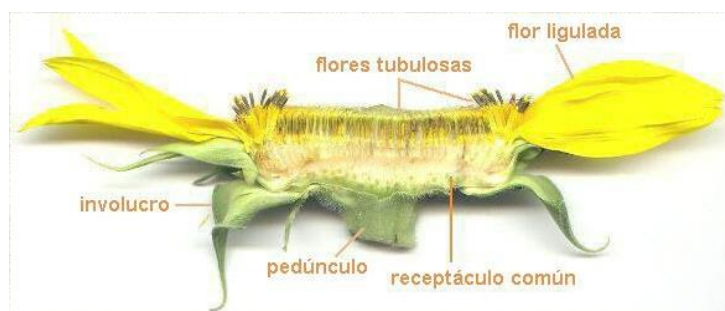


Imagen 1. Vista de la planta de girasol (izquierda), partes de la inflorescencia (arriba y derecha), y partes del fruto (abajo y derecha).

La planta (Imagen 1) se caracteriza por presentar una raíz pivotante, formada por un eje principal y abundantes raíces secundarias que en conjunto pueden llegar a alcanzar los 3 m de profundidad. El tallo es erecto, macizo y cilíndrico de 2 a 6 cm de diámetro dependiendo de la especie. La altura está comprendida entre 60 y 220 cm. Las hojas son alternas, grandes, trinervadas, muy pecioladas y de formas variables. El número de hojas por planta varía de 12 a 40 según las condiciones del cultivo y su variedad.

El capítulo (inflorescencia), está formada por dos tipos de flores (Imagen 1) que se encuentran insertadas en un receptáculo rodeado de brácteas protectoras. Las más externas, llamadas flores liguladas, son estériles y poseen una corola semejante a un pétalo; se disponen radialmente en unas o dos filas, en número de 30 a 70. Su color puede variar de amarillo a anaranjado. Hacia el interior, las denominadas tubulares, son flores hermafroditas dispuestas a manera de espiral con una antesis acrópeta.

La reproducción es alógama, es decir, la polinización es mayoritariamente cruzada debido a que posee un mecanismo fisiológico de auto-incompatibilidad esporofítica aunque el mejoramiento vegetal ha logrado que los cultivares modernos sean mayormente auto-compatibles. Una vez fecundada la flor, el ovario se transforma en fruto y el óvulo en semilla. El fruto del girasol se denomina Cipsela (imagen 1) o aquenio, el cual es seco, indehiscente y se compone por el pericarpio y la semilla.

Obtención de híbridos

La androesterilidad se define como la incapacidad de la planta de producir anteras, polen o gametos masculinos.

Pueden clasificarse en tres tipos:

1. Citoplasmática: causada por factores genéticos extranucleares, de transmisión materna, debido a que en la formación del cigoto el gameto femenino le aporta prácticamente la totalidad del citoplasma
2. Genética: causada por factores genéticos nucleares, por lo general recesivos.
3. Genético - citoplasmática: determinada por la interacción entre factores nucleares y citoplasmáticos, capaces de restaurar la fertilidad.

De los tres tipos mencionados es la genético-citoplasmática la que más se emplea por ser la más económica y práctica en la producción de híbridos.

La producción de semilla comercial en el cultivo de girasol se realiza a través de semilla híbrida. Esto se logró gracias a la androesterilidad genético-citoplasmática introgresada de la especie silvestre *H. petiolaris* y denominada CMS PET1 (Leclercq, 1969). En la actualidad la mayoría de la semilla híbrida se obtiene con esta fuente de androesterilidad.

La producción de semilla de híbridos simples emplea tres líneas parentales, denominadas A, B y R. La línea A o androestéril, posee genes nucleares recesivos no restauradores de la fertilidad y genes citoplasmáticos de androesterilidad, ubicados en la mitocondria. Esto produce la degeneración programada de las anteras, las cuales producen polen inviable o directamente no producen. La línea A no puede autopolinizarse, por lo tanto, para mantener el stock es cruzada con una línea B o "línea mantenedora". La misma es genéticamente similar a la "línea A", pero produce polen dado que no posee genes citoplasmáticos de androesterilidad. Cuando la línea mantenedora se cruza con la línea androestéril, es la última la que se cosecha. Finalmente, para producción del híbrido, la línea A (androestéril) es cruzada con la línea R o "restauradora". Esta provee de polen a la línea A y aporta los alelos dominantes que restauran la fertilidad en las semillas (F1) que son cosechadas de las plantas androestériles (Martin, 1973; Figura 3).

Para llevar a cabo la polinización del parental femenino o línea A es necesaria una superposición del período de floración entre ambas líneas endocriadas (A y R). A su vez, es fundamental contar con insectos polinizadores, que serán los encargados de trasladar el polen de una línea a la otra. Entre estos insectos polinizadores, la abeja (*Apis mellifera*) es la mayormente empleada.

Las colmenas generalmente se distribuyen en grupo de 10 equidistantes entre si entre 200 y 250 m de distancia entre grupos. Las densidades de colmenas utilizadas normalmente varían entre 0,5 a 2,5 colmenas ha⁻¹, siendo recomendable que se ubiquen en el lote cuando se observe un 5% de floración de las plantas androestériles (Long et al, 2019).

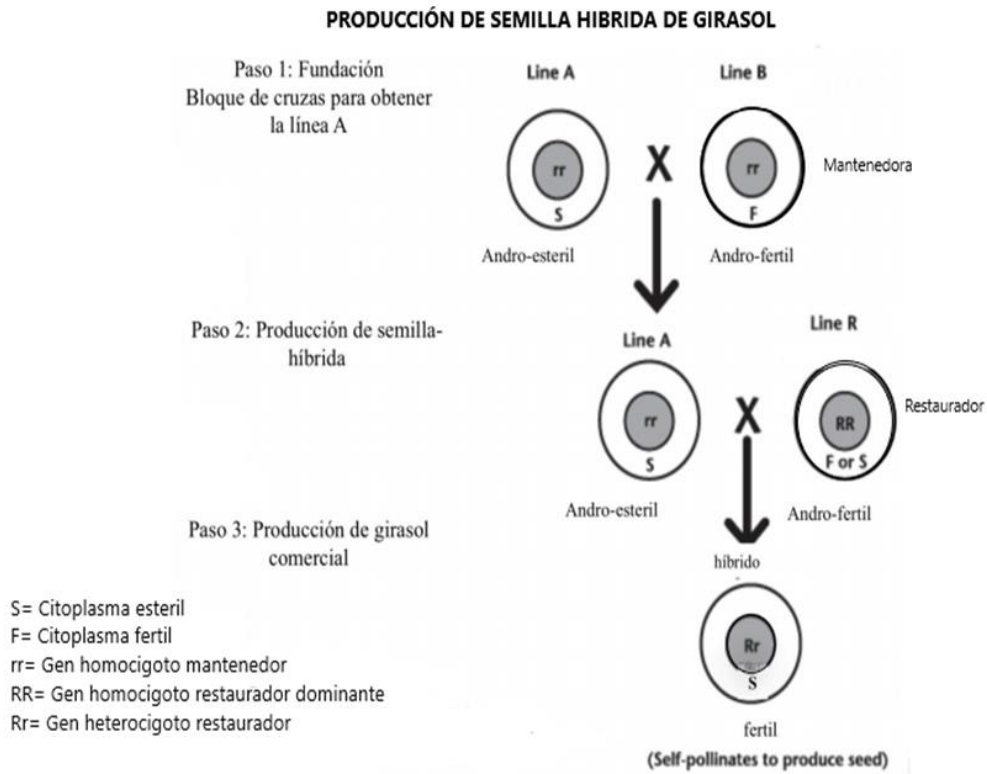


Figura 3. Obtención de un híbrido simple a partir de tres líneas endocriadas. Línea A (Androestéril), Línea B (Mantenedora) y línea R (Restauradora).

Actualmente, la obtención de semilla híbrida se concentra mayormente en el Valle bonaerense de Rio Colorado que produce anualmente cerca de 7061 toneladas (CORFO, 2023), lo que representa menos del 1% de la producción nacional de grano.



Imagen 2 . Vista de un lote de producción de semilla híbrida de girasol en la colonia San Adolfo, Partido de Villarino. Se observan líneas androestériles (Parental femenino) y líneas restauradoras (Parental masculino).

Poblaciones de girasol silvestre naturalizadas en Argentina

Se han naturalizado poblaciones del antecesor silvestre *Helianthus annuus ssp. annuus* en las provincias de La Pampa, Córdoba, Buenos Aires, San Luis, San Juan, Entre Ríos y Mendoza. Es probable que el ingreso de esta especie haya sido a partir de introducciones voluntarias de semillas, con fin en la mejora, y que su dispersión haya sido mediada por el transporte terrestre (Cantamutto et al,2010). Estas poblaciones se han adaptado a diversos ambientes de nuestro país y constituyen una valiosa fuente de variación genética para la incorporación de caracteres de importancia para el mejoramiento genético del girasol cultivado, como la androesterilidad, resistencia a patógenos y tolerancia a herbicidas (Poverene et al. 2002).

Población “Las Malvinas”

En un viaje de caracterización de la distribución de *H. annuus* en nuestro país, se localizó una población al sur de la provincia de Mendoza en una pequeña localidad llamada “Las Malvinas” (Figura 5; Poverene et al. 2008).

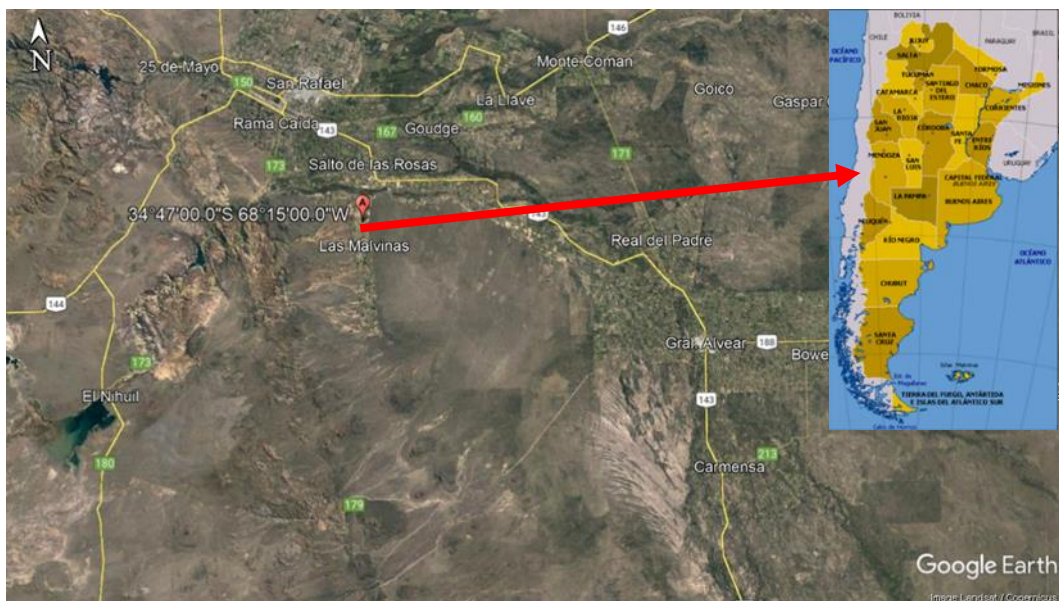


Figura 4. Ubicación de la población Las Malvinas, en la provincia de Mendoza.

Durante 2007 y 2013 se realizaron viajes de campaña donde se estudiaron las características fenotípicas de la población. Las plantas presentaban una amplia ramificación, ausencia de capitulo principal, flores liguladas de color amarillo, flores tubulares de color rojizo, presencias de antocianinas en los estigmas y peciolo.



Imagen 3: Población silvestre de *H. annuus* en la localidad de Las Malvinas, Mendoza (izquierda) y vista de un capítulo de una planta androestéril de esa población.

Se encontraron tres plantas androestériles (MS) y dos intermedias (MI) creciendo en la población estudiada. Estudios posteriores concluyeron que se trataba de una nueva fuente de androesterilidad, diferente a CMS-PET1. La disponibilidad de esta nueva fuente permite ampliar la variabilidad disponible para este carácter (Garayalde et al, 2015). Es necesario caracterizar morfológicamente las líneas derivadas de esta nueva fuente para que queden a disposición de un banco de germoplasma de girasol y puedan ser utilizadas en programas de mejora del cultivo.

Objetivos

Los objetivos del presente trabajo fueron:

i) Caracterizar morfológicamente una accesión de girasol silvestre que presenta plantas con ausencia de polen (androesterilidad), plantas androestériles cruzadas con el cultivado R049 mantenedor de la nueva fuente (LMAMS*3R049) y dos líneas restauradoras obtenidas a partir de genes de restauración silvestres (R049*LMFA y R432*LMFA). (Figura 5)

ii) Incorporar semillas de las líneas androestériles, las líneas mantenedoras y las líneas restauradoras, junto con su caracterización morfológica, al Banco de Germoplasma de Girasol perteneciente al EEA INTA Manfredi.

El fin último fue generar un *stock* genético que pueda ser empleado en un futuro por las instituciones que forman parte del trabajo de mejoramiento del girasol.

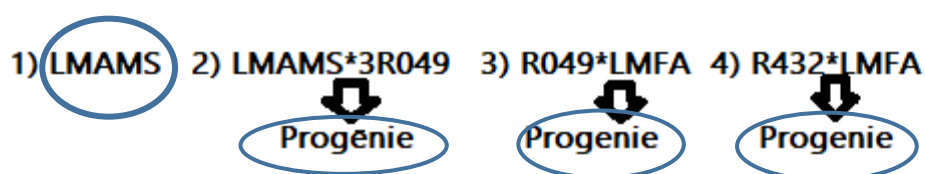


Figura 5. Esquema de la accesión y progenies descritas.

Materiales y Métodos

El ensayo se realizó en el predio del Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, (Latitud: 38°41'38" S. Longitud: 62°14'53" O), en la localidad de Bahía Blanca, partido de Bahía Blanca, provincia de Buenos Aires (Imagen 4).



Imagen 4. Ubicación del departamento de Agronomía. Universidad Nacional del Sur.

El experimento se llevó a cabo durante la campaña 2012/2013. Las accesiones utilizadas fueron: plantas silvestres androestériles provenientes de la población denominada “Las Malvinas” (LMA), colectada en la provincia de Mendoza, que fueron mantenidas por cruzamientos entre plantas hermanas (LMAMS); otro material androestéril (LMAMS*3RO49), generado a partir de plantas silvestres androestériles de LMAMS retrocruzado tres veces con polen de la línea endocriada R049 que se comportó como mantenedora de esta nueva fuente de androesterilidad; y dos líneas restauradoras de la nueva fuente de androesterilidad generadas a partir de cruzamientos de materiales cultivados con el polen de plantas fértiles silvestres de LMAMS (R049*LMAF y R432*LMAF).

Con el objetivo de romper la dormición, a fines del mes de octubre, se escarificaron mecánicamente las semillas, se colocaron en bandejas con papel absorbente humedecido y luego se mantuvieron durante siete días en heladera (4 °C).

Posteriormente, las semillas se sembraron en bandejas plásticas multiceldas, cada una con 40 celdas para cada accesión. El sustrato utilizado fue GrowMix Multipro (Terrafertil S.A), compuesto de turba de musgo *Sphagnum* de fibras medias, corteza, cal calcita, cal dolomita y agentes humectantes (85-90% MO, 100-200 N, 80-100 P, 120-200 K, 75-100 Ca, 20-45 Mg). Las bandejas sembradas se colocaron en invernáculo, donde las plantas fueron mantenidas hasta el estadio V4 bajo condiciones de luz natural, riego diario y temperaturas de 20-25°C.

Las plantas fueron trasplantadas a fines del mes de noviembre a un jardín común con riego por goteo que previamente había sido desmalezado, rastreado y emparejado.



Imagen 5. Ubicación del jardín común en el predio de Agronomía en la Universidad Nacional del Sur.

Alcanzada la madurez comercial las plantas permanecieron en el jardín común hasta el mes de marzo donde se procedió a la cosecha de los capítulos para luego ser evaluados en el laboratorio donde se determinaron los caracteres de las semillas.

Para la caracterización morfológica se seleccionaron 34 descriptores tanto para evaluaciones durante el desarrollo del cultivo como en post-cosecha (Tabla 1 y 2, los descriptores se detallan en la International Board for Plant Genetic Resources, 1985). Se realizó un análisis estadístico descriptivo con los caracteres cualitativos mientras que para los caracteres cuantitativos se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) y las medias fueron comparadas mediante el test de Tukey. Además, se hizo un análisis de componentes principales. Todos los análisis fueron realizados mediante el paquete estadístico Infostat (Di Rienzo et al., 2017)



Imagen 6. Vista del ensayo jardín común en el departamento de Agronomía de la Universidad Nacional del Sur. La primera hilera corresponde a la accesión LMAMS X 3*R049.

En la Imagen 6 se pueden observar capítulos de plantas del material LMAMS X 3*R049 cubiertos con sobres de papel. Estos se utilizaron para determinar la presencia/ausencia de polen de las plantas, así como para realizar cruzamientos controlados con genotipos de interés.

Tabla 1 Descriptores métricos y categóricos empleados en la caracterización morfológica de *Helianthus annuus*.

Partes	Siglas	Descriptor	Detalle
Planta	ap	altura de planta	medida en cm
	tr	tipo de ramificación	apical, total
	ndc	numero de capítulos	conteo de capítulos
Hoja	adh	ancho de hoja	medida en cm
	ldh	largo de hoja	medida en cm
	thd	tamaño de hoja	producto entre el largo y el ancho de la hoja
	ldp	largo de peciolo	medido en cm
	ilp	índice de lámina : peciolo	relación largo de lámina: largo de peciolo
	mdh	margen de hoja	debilm. aserradas a muy aserradas
	ndh	numero de hojas	sobre el tallo principal
Capítulo	nfl	numero de flores liguladas	del capítulo principal
	pl	pigmentación en lígulas	ausente, presente
	adl	ancho de lígulas	medido en cm
	ldl	largo de lígulas	medido en cm
	ndf	numero de filarias (brácteas)	conteo de brácteas del capítulo principal
	pae	presencia de antocianinas en el estigma	ausente, presente
	pda	presencia de androesterilidad	ausente, presente
	pdhc	presencia de hojas al dorso del capitulo	ausente, presente
	pf	pubescencia de filarias	expresada en %
	ldf	largo de filaria	medido en cm
	abf	ancho basal de filaria	medido en cm
	rlaf	relación largo/ancho filaria	medido en cm
	pap	presencia de antocianina en la pálea	(ausente, presente)
	dc	diámetro del capitulo	medido en cm
	ldl	largo de lígulas	medido en cm
cd	color del disco (corolas)	rojo o amarillo	
Cipsela	spl	semillas en polinización libre	número de semillas cosechadas de capítulos que no fueron cubiertos
	pdgpl	peso de los granos de polinización libre	expresadas en gr
	p100pl	peso de cien granos en polinización libre	expresado en gr
	cdp	contenido de pepita	% de peso en 20 granos
	pdp	peso de pepita	expresada en gr
	pdc	peso de cáscara	expresada en gr
	sl	semillas llenas	conteo de un cuarto del capitulo
	sv	semillas vanas	conteo de un cuarto del capítulo
ft	fertilidad	proporción de semillas llenas del total	

Resultados y Discusión

En la **Tabla 2** se encuentran los valores promedio de las variables cualitativas y cuantitativas empleadas para la descripción morfológica.

Partes	Variables	LMAMS	LMAMS*3R049	R049*LMAF	R432*LMAF
planta	ap	159,41 b	157,13 b	147,75 ba	135,5 a
	tr	0,18	0,5	1	1
	ndc	30,42 c	23 bc	16,48 ab	11,21 a
hoja	adh	21,97 b	21,94 b	19,40 b	16,36 a
	ldh	23,06 b	21,99 b	17,64 a	15,64 a
	tdh	513,45 b	485,40 b	345,97 a	266,41 a
	ldp	14,84 a	15,69 a	15,38 a	13,57 a
	ilp	1,58 b	1,42 b	1,16 a	1,18 a
	mdh	0,38	0	0	0,5
	ndh	21.86 a	27.63 b	31.88 c	0
capítulo	nfl	32,68 a	32,38 a	35,75 a	32,43 a
	ppl	0	0	0,03	0,29
	adl	1,03 a	1,19 a	1,58 b	1,58 b
	ldl	3,94 a	3,80 a	5,6 b	5,79 b
	ndf	48,43 a	52,25 a	52,75 a	47,5 a
	pae	0,15	0	0,15	0,86
	pda	0,41	1	0	0,07
	pdhc	0,04	0,13	0,03	0,07
	pf	57,92 a	56,25 a	60,00 a	69,64
	ldf	3,02 a	4,63 c	3,39 b	2,89 a
	abf	0,93 c	1,08 b	0,62 a	0,8 b
	rlaf	3,32 a	4,32 b	5,56 c	3,78 ab
	pap	0	0	0,03	0,36
	dc	4,6 a	5,28 ab	6,59 c	5,96 bc
	cd	0	0	0	0,57
Cipseala	slp	416,29 a	770,00 b	537,00 ab	463,75 a
	pdgpl	8,69 a	30,98 c	18,62 b	10,33 a
	p100pl	1,90 a	4,07 c	3,65 bc	2,49 ab
	cdp	46,95 a	65,17 c	57,12 bc	55,34 ab
	pdp	0,18 a	0,51 d	0,41 c	0,30 b
	pdc	0,21 a	0,31 a	0,28 a	0,25 a
	sl	416,29 a	770 b	537,00 ab	463,75 a
	sv	52,43 a	141,00 a	59,88 a	56,00 a
	ft	5,45 a	18,69 b	11,06 ab	9,85 ab

Tabla 2. Valores promedios de las variables medidas durante el ciclo del cultivo para cada uno de los materiales y test de comparación de media a pares (Tukey $P < 0.05$)

Letras diferentes indican diferencias significativas según el test de Tukey para un $p < 0.05$. Referencias **tr**: tipo de ramificación, **ap**: altura de planta, **ndc**: número de capítulos, **adh**: ancho de la hoja, **ldh**: largo de la hoja, **tdh**: tamaño de la hoja, **ldp**: largo del pecíolo, **ilp**: índice lámina: pecíolo, **mdh**: margen de hoja, **pdhc**: presencia de hojas al dorso del capítulo, **nfl**: número de flores liguladas, **ppl**: presencia de pigmentación de las lígulas, **adl**: ancho de lígulas, **ldl**: largo de las lígulas, **ndf**: número de filarias(brácteas), **pf**: pubes. filarias, **ldf**: largo de la filaria, **abf**: ancho basal de las filarias, **rlaf**: relación largo /ancho filarias, **pap**: presencia de antocianina en palea, **pae**: presencia de antocianina en estigma, **dc**: diámetro de capítulo, **cd**: color del disco, **pda**: presencia de plantas con androesterilidad. **slp**: semilla en polinización libre, **pdgpl**: peso de los granos de polinización libre por capítulo, **p100pl**: peso de cien granos en polinización libre, **cdp**: contenido de pepita, **pdp**: peso de pepita, **pdcc**: peso de cascara, **sll**: semillas llenas, **sv**: semillas vanas, **ft**: fertilidad (proporción de semillas llenas respecto a las vanas).

En las variables medidas sobre las plantas se observó que la accesión R432*LMAF fue de menor tamaño en comparación con las accesiones LMAMS y LMAMS*3R049. A su vez LMAMS tuvo mayor número de capítulos en comparación a los restauradores R049*LMAF y R432*LMAF.

Los valores de largo de hojas (**ldh**), tamaño de hoja (**tdh**) e índice lamina pecíolo (**ilp**), fueron mayores en las accesiones LMAMS y LMAMS*3R049 comparadas con los restauradores R049*LMAF y R432*LMAF. A su vez el restaurador R432*LMAF tuvo menores valores de ancho de hoja (**adh**) comparado con las demás accesiones.

Todas las plantas evaluadas presentaron hojas de base cordada y forma cordiforme. El margen de las hojas (**mdh**) de la accesión LMAMS y la línea restauradora R432*LMAF presentaron respectivamente un 38% y 50% de margen débilmente aserrado, con el resto de las plantas con hojas de margen muy aserrado, mientras que la línea androestéril cruzada con el mantenedor (LMAMS*R049) y la línea restauradora R049*LMAF presentaron el 100% de sus hojas con margen muy aserrado.

Las accesiones androestériles LMAMS y LMAMS*3R049 presentaron menores valores de ancho de lígula y largo de lígula en comparación con las restauradoras R049*LMAF y R432*LMAF. Solo los restauradores (R049*LMF y R432*LMF) presentaron pigmentación en las lígulas (**ppl**), siendo en un 3 y 29%, respectivamente. También se observó antocianina en palea solo en esos materiales, en un 3 y 36%, respectivamente, mientras que antocianina en estigma solo se observó en las accesiones LMAMS y las restauradoras (R049*LMAF y R432*LMAF) con una frecuencia de 15%, 15 % y 86 % respectivamente.

La frecuencia de la hoja en el dorso (**fdhc**) de las accesiones LMAMS, las androestériles cruzadas con el mantenedor (LMAMS*R049) y las líneas restauradoras (R049*LMAF y R432*LMAF) fueron del 4%, 13%, 3% y 7%, respectivamente.

LMAMS tuvo menor frecuencia de plantas androestériles que el genotipo LMAMS*3R049 (0,41 vs. 1,0). El aumento del porcentaje de plantas androestériles en la cruce mantenedora podría explicarse por la selección del carácter androesterilidad. La accesión LMAMS x 3R049 mostró los valores más elevados para todos los caracteres de semilla evaluados, aunque siendo significativamente mayores sólo para las variables pdgpl, pdp. Le siguió R049 x LMAF, y como era de esperarse la accesión silvestre (LMAMS) mostró los menores valores para todas las características medidas, siendo significativamente menores para cpd.

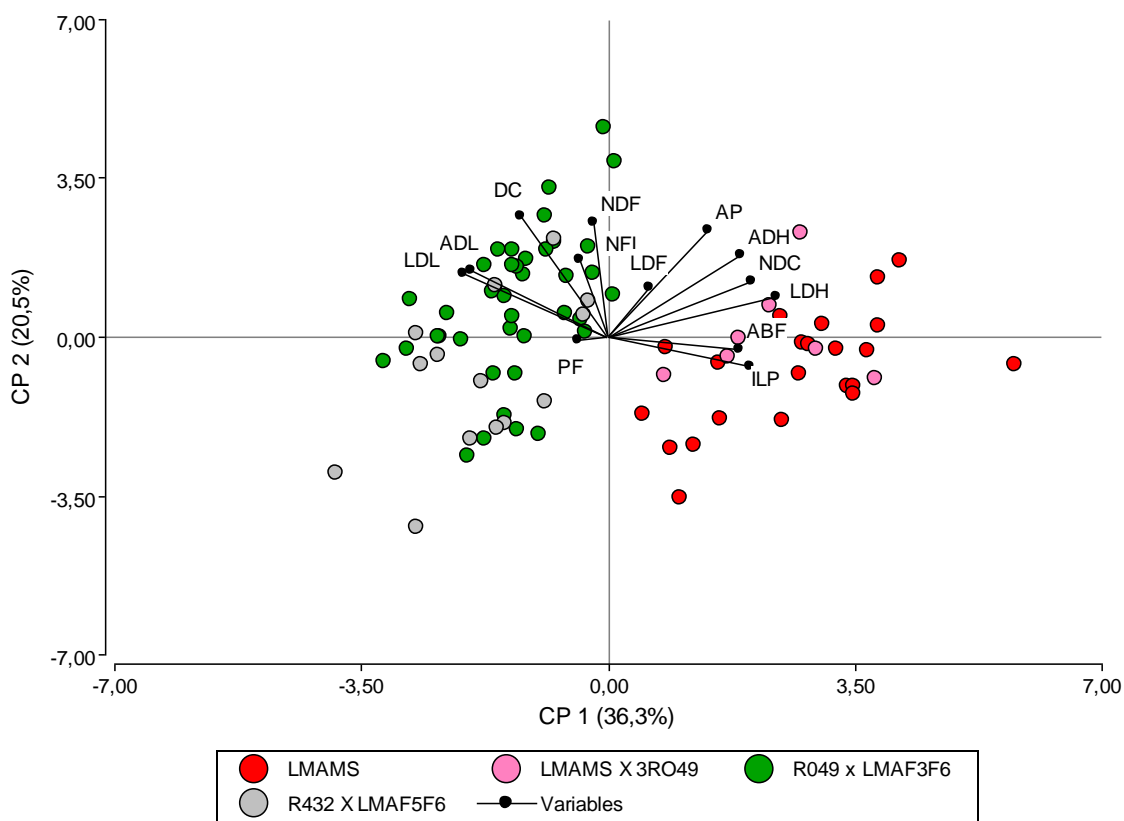


Figura 6 :Análisis de componentes de las variables cuantitativas de la accesión (LMAMS), Línea androestéril mantenida por R049 mantenedor (LMAMS X 3R049) y los restauradores (R049 X LMAF3F6 y R432 X LMAF5F6).

Referencias: AP: Altura de Planta, NDC: Numero de capítulos, ADH: Ancho de la Hoja, LDH: Largo de la hoja, ILP: Índice lamina: peciolo, NFL: Numero de flores liguladas, ADL: Ancho de lígulas, LDL: Largo de las lígulas, NDF: Número de filarias(brácteas), PF: Pubes. Filarias, LDF: Largo de la filaria, ABF: Ancho basal de las filarias, DC: Diámetro de capítulo.

En el análisis de componentes principales, los componentes 1 y 2 explicaron un 56,9% del total de la variación encontrada. Las variables AP, NDH, ADH, LDH, ILP, ADL, LDL y DC tuvieron en las dos primeras componentes un porcentaje de reconstrucción mayor al 60 %. Las plantas de la población silvestre de LMAMS y las obtenidas de la retrocruza con el mantenedor R049 (LMAMS*3R049) se agruparon juntas mientras que las plantas

de las líneas restauradoras generadas (R049*LMF y R432*LMF) formaron un grupo separado. Las plantas de la población silvestre LMAMS y la accesión LMAMS*3R049 presentaron mayores valores de las variables índice de lámina pecíolo, número de capítulos y largo de la hoja y menores valores de las variables largo de las lígulas, ancho de las lígulas y diámetro de capítulo que las líneas restauradoras generadas (Fig. 6).

Por último, las líneas restauradoras generadas presentaron una variabilidad morfológica similar a la población silvestre, mientras que la accesión LMAMS*3R049 mostró una menor variabilidad. Esta puede explicarse debido a que la línea androestéril tuvo tres retrocruzas con la línea endocriada R049.

Debería ser prioritario realizar más ensayos de cruzamiento para asegurar la androesterilidad citoplasmática de la accesión de "Las Malvinas". Posteriormente sería recomendable un programa de selección de individuos y retrocruzas para aislar los caracteres deseados y obtener individuos más homogéneos.

Conclusiones

- En la población silvestre proveniente de Las Malvinas (Mendoza) de un total de 10 plantas 4 presentaron individuos con fenotipo androestéril que podrían ser de utilidad para la mejora del girasol domesticado.
- La línea endocriada R049 empleada como padre en la accesión LMAMS X 3*R049 permitió mantener el carácter androestéril de las plantas de LMAMS, funcionando entonces como una línea mantenedora. A su vez, estos resultados sugieren que la androesterilidad presentan una herencia del tipo citoplasmática, aunque es necesario continuar con las investigaciones para verificar el tipo de herencia y estabilidad del carácter androestéril.
- Las líneas endocriadas R049 y R432 cruzadas con plantas fértiles de la población silvestre LMA incorporaron genes de restauración silvestres. Esto permitió generar dos líneas restauradoras (R049XLMF3 y R432XLMF) de esta nueva fuente.
- Estos materiales constituyen un *stock* genético que ya está a disposición de los programas de mejoramiento del girasol a través del Banco de Germoplasma Activo del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Manfredi en la provincia de Córdoba.

Bibliografía

- ASAGIR, 2021. Asociación Argentina de Girasol. En: <http://www.asagir.org.ar/>.
- Bertero de Romano, A. & Vázquez, A. (2003). Origin of the argentine sunflower varieties / origen de las variedades de girasol argentinas / origine des variétés de tournesol argentin. *helia*, 26(38), 127-136. <https://doi.org/10.2298/hel0338127d>
- Bolsa de comercio de Rosario 2020. Industrialización y exportación de girasol 2019/2020. En: <https://www.bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/noticias-informativo-semanal-27>.
- Cantamutto M, Torres L, Presotto A, et al. 2010. Migration pattern suggested by terrestrial proximity as possible origin of wild annual *Helianthus* populations in central Argentina. *Biological Invasions* 12:541–551.
- CORFO, 2023. Corporación de Fomento del Valle Bonaerense del Río Colorado. Estadísticas. Estimación de producto bruto agropecuario regional. Periodo 2022-2023. En: <https://corfo.gob.ar/wp-content/uploads/2023/02/encuesta-2022-2023.pdf>.
- Crop Explorer for Major Crop Regions - United States Department of Agriculture. En: <https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?cropid=2224000>.
- Echeverria, M. (2005). Caracterización genética y agronómica de la androesterilidad citoplásmica RES1 en girasol (*Helianthus annuus* L.) identificada en la especie silvestre *H. resinosus* Small.
- Garayalde A. F., Presotto A., Carrera A., Poverene M., Cantamutto M. 2015. Characterization of a new male sterility source identified in an invasive biotype of *Helianthus annuus* (L.). *Euphytica*, 206(3), 579-595.
- IBPGR. 1985. Sunflower Descriptors. International Board for Plant Genetic Resources (IBPGR). Rome, Italy.
- InfoStat. Software Estadístico versión 2017. Grupo InfoStat. FCA. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba. Argentina. En: www.infostat.com.ar/
- Leclercq P 1969. Une Sterilite Male Cytoplasmique Chez le tounesol. *Ann Amelior. Plantes* 19 (2): 99-106.
- Long, R., Gulya, T., Light, S., Bali, K., Mathesius, K., & Meyer, R. D. (2019). Sunflower Hybrid Seed Production in California. Retrieved from <https://escholarship.org/uc/item/14k450p6>.
- MAGyP. 2019. Ministerio de Agroindustria. Presidencia de la Nación. Disponible en: <https://datos.magyp.gob.ar/reportes.php?reporte=Estimaciones>.

- Martín, G. O., & Héctor, F. (1973). La esterilidad masculina y el mejoramiento vegetal. Serie didáctica-Facultad de Agronomía y Zootecnia (Tucumán-Argentina). (1973). (noº 24) 48 p.
- Paoloni Pablo Julián. 2002. "Tesis Magister en Ciencias Agrarias". Producción de semilla híbrida de girasol (*Helianthus annuus* L.) bajo riego en el valle inferior del río Colorado.
- Poverene M.M, Cantamutto M.A., Carrera A.D., Ureta M.S., Salaberry M.T, Echeverria M.T., Rodríguez R.H. 2002. El girasol silvestre en la Argentina: caracterización para la liberación de cultivares transgenicos. RIA 31: 97-116
- Szemruch C. 2014. Calidad de semillas de Girasol: Prácticas de manejo para maximizarla. Disponible en: <http://www.engormix.com/MA-agricultura/girasol/articulos/calidad-semillas-girasol-practic-as-t5919/421-p0.htm>
Consultado: 02/2019.
- Sukanya Biradar, A.G. Vijaykumar, G.K. Naidu, S.M. Vastrad and Shobha Immadi. 2019. Restoration Ability of New Inbred and Restorer Lines on Different CMS Sources in Sunflower (*Helianthus annuus* L.).*Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 8: 2389-2393.
- Tadeo, Margarita, Espinosa, Alejandro, Solano, Ana María, Martínez, Rafael, Androesterilidad en líneas e híbridos de maíz de Valles Altos de México 2003. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43714103> .
- Ureta, M. S., Carrera, A. D., Cantamutto, M. A., & Poverene, M. M. (2008). Gene flow between cultivated and wild sunflower *Helianthus annuus* in Argentina.

ANEXO: DESCRIPCION MORFOLOGICA, FENOLOGICA Y SANITARIA DEL CULTIVAR

Las siguientes descripciones corresponden a observaciones efectuadas en:

Localidad: Bahía Blanca.

Provincia: Buenos Aires.

Latitud: 38°41'38" S. Longitud: 62°14'53" O.

Designación experimental: LMMS. Cultivar híbrido: No corresponde. Genotipo silvestre

(*Helianthus annuus* ssp. *annuus*) con presencia de androesterilidad (MS). La accesión Las Malvinas MS (LMMS) está compuesta por plantas provenientes de cruzamientos entre una planta silvestre androestéril y polen obtenido de plantas hermanas. Pedigrí: LMMS PL3 (MS) x SIB.

AUTORES: Garayalde AF^{1,2}, DJ Girón³, A Presotto³, AD Carrera^{1,3}, MA Cantamutto³

¹CERZOS-CONICET; ²Departamento de Matemáticas UNS; ³Departamento de Agronomía UNS.

agarayalde@criba.edu.ar

CARACTERISTICAS ADICIONALES: Consignar aquí todas aquellas características que el criador considere que son importantes para la mejor descripción de su material.

Figura A1: Planta MS de la población de *Helianthus annuus* silvestre de Mendoza mantenida mediante cruzamientos con plantas fértiles de la misma población (accesión LMMS). Campo experimental del Dpto. de Agronomía, UNS.



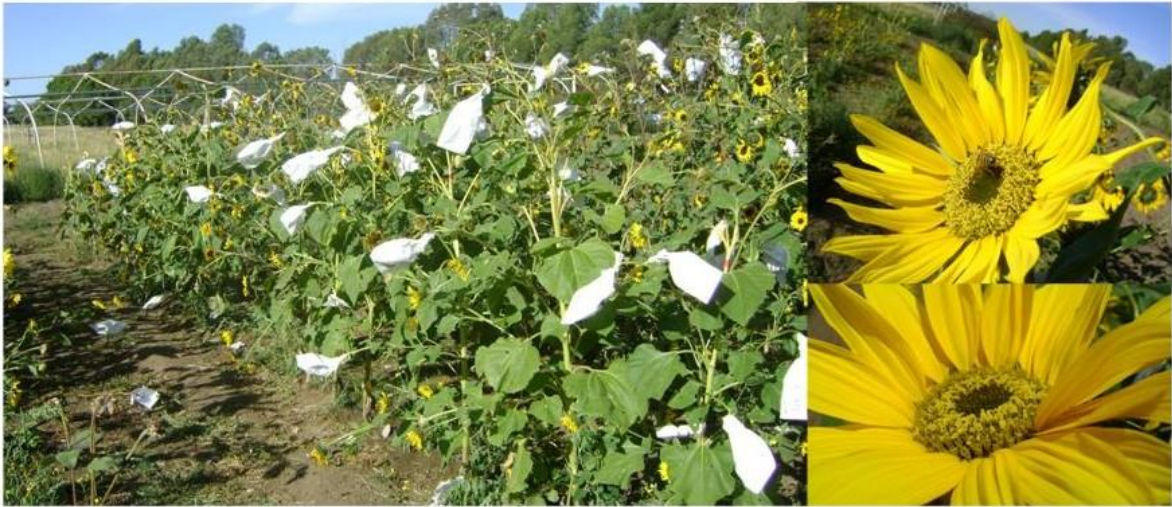


Figura A2: Accesoión LMMS



MS



MI



MF

Figura A3 - Estructuras reproductivas masculinas encontradas en la población silvestre Las Malvinas de *H.annuus* spp. *annuus* de Argentina. MS: planta androestéril; MI: planta intermedia; MF: planta androfértil.

Emergencia a principio de floracion	Promedio	59.77
	D.E	4.9
	Rango	20
Día de transplante a 10 % de floracion		55
Día de transplante a 50 % de floracion		59

Tabla A 1. Descripción fenológica. Días a floración

Hoja	Forma	Oblonga	
		Lanceolada	
		Triangular	
		Cordada	X
		Redondeada	
	color	Verde claro	
		Verde medio	X
		Verde oscuro	
	Numero	media	21.68
		D.E	2.73
		Rango	10
	Largo de lámina (cm)	media	23.12
		D.E	2.9
		Rango	11,5
	Ancho de lámina (cm)	media	21,95
		D.E	2.92
		Rango	10,5
	Relación Largo/ancho	media	0.95
		D.E	0,06
		Rango	0,25
	Long. Del peciolo (cm)	media	14,8
		D.E	2,25
		Rango	7
	Sup .lamina	Rugosa	X
		medianamente rugosa	
		Lisa	
	Aserrado del borde foliar	Nulo	
		Medio	X
		Fuerte	
		Muy fuerte	
	Inclinación de la lámina respecto al tallo	Angulo menor de 45º	
		Angulo entre 45 y 90º	X
		Angulo Mayor de 90º	
	Forma en sección transversal	Fuertemente cóncava	X
		Débilmente cóncava	
		Plana	
		Débilmente convexa	
		Fuertemente convexa	
	alas	Ninguna	X
		Débilmente expresadas	
		Fuertemente expresada	
	Angulo de las vena laterales inferiores	Agudo	
Recto a casi recto		X	
Obtuso			

Capitulo	Forma	Cóncavo	
		Plano	X
		Convexo	
		Deforme	
	Diámetro a la madurez (cm)	Capitulo principal	4,57
		D.E	0,69
		Rango	3
	Posición	Horizontal	
		Inclinado	X
		Vertical	
		Medio, hacia abajo	
		Hacia abajo	
	Brácteas (relación Largo brácteas/radio capitulo)	media	1,36
		D.E	0,27
		Rango	1.23
Espesor del Receptáculo	Fino		
	Mediano	X	
	Grueso		
Flores	Densidad. Nº de flores/circunferencia	Esparcidad	
		Medio	X
		Densa	
	Flores liguladas	media	32,68
		D.E	2,9
		Rango	14
	Ancho de lígula (cm)	media	1.04
		D.E	0.1
		Rango	0.4
	Largo de lígula (cm)	media	3.91
		D.E	0.58
		Rango	2
	Color de la lígula	Amarillo claro	X
		Amarillo anaranjado	
		Amarillo dorado	
		otro	
	Color de la corola	Amarillo	X
		Anaranjado	
		Rojo	
		Otro	
	Color de las anteras	Marrón	X
		Otro	
	Color de los granos polen	Blanco	
		Amarillo	X
	Color del papús	Verde	
		Rojo	X

Aquenios	Numero por capitulo	media	463,75
		D.E	182.76
		Rango	490
	Ancho (mm)	media	2,78
		D.E	0,33
		Rango	1
	Largo (mm)	media	7.11
		D.E	0.71
		Rango	4
	Espesor promedio		No determinado
	Forma	Alargada	
		Ovoide angosta	X
		Ovoide ancha	
		Redondeada	
	Pubescencia	Ausente	X
		Presente	
	Moteado	Ausente	X
		Presente	
	Color del pericarpio	Negro	X
		Castaño	
		Blanco	
		Gris	
		Otro	
	Estrías	Ausentes	
		Presentes	X
	Color de estrías	Blanco	X
		Gris	
		Marrón	
		Negro	
		Otros	
	Posición de las estrías	Marginal	
		Lateral	
		Marginal y latera	X
Central			
Otra			
Peso en 1000 (gr)	media	19,04	
	D.E	4.58	
	Rango	13.99	
Porcentaje de pepita	media	46,95	
	D.E	1,37	
	Rango	4,2	
Porcentaje de aceite		No determinado	
Disco floral	Intensidad de la coloración antocianina del estigma	Débil	X
		Medio	
		Fuerte	

Bráctea	Forma	Alargada	
		Triangular	X
		Redondeada	
	Largo (cm)	media	3.04
		D.E	0.33
		Rango	1
	Ancho basal (cm)	media	0.93
		D.E	0.33
		Rango	1
	Numero de Bráctea	media	48,18
		D.E	5,59
		Rango	19
	Largo del ápice	Muy corto	
		corto	
		Medio	X
		Largo	
		Muy largo	
	Color verde de la parte externa	Claro	X
		Medio	
		Oscuro	

Tabla A 2. Tabla de descripción Morfológica del cultivar.

COMPORTAMIENTO SANITARIO

(Se podrá utilizar información complementaria, procedente de localidades distintas a las consideradas en el Legajo).

No se registraron enfermedades.

Plasmopara halstedii (Downy mildew)

- * Inoculación artificial
- * Método:
- * Laboratorio:

RAZAS						REACCION
					SI	
						Resistente
						Susceptible

SI: Sin Identificar

Puccinia helianthi (Roya negra)

- Sin presencia
- Infección natural
 - Localidad: _____ Año: _____
- Inoculación artificial (Aclarar método de inoculación y escala de evaluación en Información complementaria)

Laboratorio: _____

RAZAS						REACCION
					SI	
						Resistente
						Mod. resistente
						Mod. susceptible
						Susceptible

- Resistente (Sin pústulas o con pústulas pequeñas o aisladas)
- Mod. Resistente (Pústulas pequeñas, cubriendo menos del 10% del área foliar o grandes pero aisladas)
- Mod. Susceptible (Pústulas grandes cubriendo entre el 10% y el 20% del área foliar)
- Susceptible (Pústulas grandes cubriendo más del 20% del área foliar)

Albugo tragopogonis (Roya Blanca)

Sin presencia

Infección natural

Localidad:

Año:

Inoculación artificial (Aclarar método de inoculación y escala de evaluación en Información complementaria)

Laboratorio:

Resistente (Sin pústulas o con pústulas pequeñas aisladas)

Mod. Resistente (Pústulas pequeñas cubriendo menos del 10% del área foliar o grandes pero aisladas)

Mod. Susceptible (Pústulas grandes cubriendo entre el 10% y 20% del área foliar)

Susceptible (Pústulas grandes cubriendo más del 20% del área foliar)

Verticillium dahliae (Kleb.) (Verticiliosis)

Sin presencia

Infección natural

Localidad:

Año:

Inoculación artificial (Aclarar método de inoculación y escala de evaluación en Información Complementaria)

Laboratorio:

Resistente (Plantas sin síntomas en hojas y tallo)

Mod. Resistente (Plantas con síntomas en hojas afectando el tercio inferior de la planta)

Mod. Susceptible (Plantas con síntomas en hojas afectando la mitad de la planta)

Susceptible (Plantas con síntomas en hojas y tallo afectando la mayor parte de la planta)

Sclerotinia sclerotiorum (Lib) de Bary (Podredumbre del capítulo)

Sin presencia

Infección natural (Aclarar procedimiento y escala de evaluación utilizados en Información Complementaria)

Localidad:

Año:

Inoculación artificial (Aclarar método de inoculación y escala de evaluación en Información complementaria)

Laboratorio:

Resistente

Mod. Resistente

Mod. Susceptible

Susceptible

Phoma oleracea var. helianthi - tuberosi - sacc. (Mancha en escudete)

Localidad:

Año:

- Sin presencia
- Resistente (Sin manchas o con manchas pequeñas aisladas)
- Mod. Resistente (Manchas pequeñas en tallo afectando el tercio basal de la planta)
- Mod. Susceptible (Manchas grandes en tallo afectando la mitad inferior de la planta)
- Susceptible (Manchas grandes y/o pequeñas en tallo afectando más de la mitad de la planta)

Phomopsis spp. - Phomopsis

- Sin presencia
- Infección natural (Aclarar procedimiento y escala de evaluación utilizado, en Información complementaria)

Localidad:

Año:

- Inoculación artificial (Aclarar método de inoculación y escala de evaluación en Información complementaria)

Laboratorio:

- Resistente
- Mod. Resistente
- Mod. Susceptible
- Susceptible

Otras enfermedades

Especificar patógeno, localidad, año y método de evaluación utilizado.

