

## RESUMEN

*Helianthus petiolaris* (Asteráceas) es una especie nativa de América del Norte que se ha naturalizado en la región central de Argentina. Su área de dispersión se superpone extensivamente con la región de cultivo del girasol, *H. annuus* var. *macrocarpus*. La coincidencia en el período de floración y la existencia de polinizadores comunes facilita los cruzamientos interespecíficos. La finalidad de esta tesis fue estudiar la posibilidad de flujo génico entre *H. petiolaris* y el girasol domesticado y comprobado eso, analizar las descendencias híbridas interespecíficas para determinar la tasa de hibridación, la persistencia de alelos del cultivo en las poblaciones silvestres y las consecuencias del flujo génico en la aptitud biológica de las plantas silvestres y en sus relaciones con otros componentes del ecosistema.

En un estudio previo a esta tesis se estimó la ocurrencia de cruzamientos interespecíficos en ambas direcciones de flujo génico: cultivo – silvestre y silvestre – cultivo. Se encontraron plantas fuera de tipo entre las progenies de ambas especies puras, con frecuencias de 0,5% y 0,3% respectivamente. Esas plantas atípicas mostraron valores de caracteres morfológicos intermedios entre ambas especies parentales y baja fertilidad.

Frente a la evidencia de presuntos híbridos en las progenies de las poblaciones puras de ambas especies que florecían en coincidencia, se identificaron molecularmente híbridos interespecíficos entre el girasol cultivado y *H. petiolaris* y se detectó la presencia de alelos del cultivo en poblaciones silvestres. Se utilizaron marcadores RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) y los resultados mostraron que la frecuencia de introgresión de marcadores específicos del cultivo en las poblaciones silvestres era muy baja (0,02).

Algunos híbridos de primera generación fueron parcialmente fértiles y produjeron descendencias identificables en base a caracteres morfológicos y moleculares, que permitieron evaluar la persistencia de los alelos del cultivo en las poblaciones silvestres. Se realizaron tres ensayos para evaluar las generaciones avanzadas de híbridos, utilizando plantas de *H. petiolaris* y girasol cultivado como testigos: a) descendientes de cruas controladas en jardín común, con retrocruas controladas con plantas de la respectiva población silvestre (R) y cruzamientos semi-controlados por polinización abierta con la comunidad polínica del campo experimental (PA); b) descendientes de cruas en condiciones naturales; y c) descendientes de

cruzas naturales en jardín común. Se registraron variables morfológicas métricas y categóricas y marcadores moleculares en el primer ensayo. Los descendientes de híbridos se diferenciaron de las especies parentales, mostrando morfología intermedia y mayor similitud con *H. petiolaris* en algunos rasgos. Se encontraron asimismo marcadores específicos de girasol en descendientes de híbridos interespecíficos, demostrando que los alelos del girasol cultivado pueden persistir en las poblaciones de *H. petiolaris* por generaciones luego de la hibridación.

El flujo génico entre cultivos y parientes silvestres puede originar híbridos con una aptitud biológica reducida comparada con sus progenitores silvestres. Se estudió la aptitud biológica en generaciones avanzadas de cruzas *H. petiolaris* x girasol cultivado comparando descendencias de cruzas silvestre - cultivo por polinización abierta de primera generación, de segunda generación, retrocruzas con plantas de la respectiva población silvestre y plantas de *H. petiolaris*. Las variables estudiadas fueron germinación y dormición, viabilidad de polen, fenología reproductiva, número de capítulos, producción de semillas y biomasa seca. Los resultados mostraron que la introgresión de genes de girasol cultivado en las poblaciones silvestres disminuyó la aptitud biológica de los descendientes. Los descendientes de primera y segunda generación tuvieron una aptitud menor que *H. petiolaris* en tanto las retrocruzas tuvieron valores intermedios. Todos los parámetros de aptitud tendieron a recuperarse en las generaciones posteriores a la hibridación.

Las características aportadas por el genoma cultivado podrían alterar las interacciones bióticas de un genotipo silvestre en su ambiente. Para investigar esta hipótesis se evaluaron descendencias de cruzas silvestre – cultivo de primera generación por polinización abierta y plantas de *H. petiolaris* frente a enfermedades fúngicas y el ataque de isoca medidora (*Rachiplusia nu*). Los resultados mostraron que las poblaciones silvestres fueron muy poco afectadas por el ataque del insecto y las enfermedades fúngicas, comparadas con las descendencias híbridas, encontrándose diferencias altamente significativas para cuatro de las cinco adversidades monitoreadas. El flujo génico del girasol cultivado en *H. petiolaris* afectó las interacciones bióticas entre las plantas y sus predadores, demostrando que los genes del cultivo alteran las relaciones ecológicas en las poblaciones silvestres.

Los resultados obtenidos señalan que características agronómicas incorporadas a nuevas variedades de girasol por mutación genética o biotecnología (transgenes) muy probablemente alterarán las poblaciones de la especie silvestre *H.*

*petiolaris*, que constituye una valiosa fuente de germoplasma para el mejoramiento genético de ese cultivo. Asimismo podrían exacerbar características de maleza invasora en esas poblaciones.

## ABSTRACT

*Helianthus petiolaris* (Asteraceae) native to North America has naturalized in the central part of Argentina. Its geographical range extensively overlaps the sunflower (*H. annuus* var. *macrocarpus*) crop region. Flowering synchronicity and common pollinators facilitate interspecific crosses. The goal of this thesis was to study the likelihood of gene flow between *H. petiolaris* and domestic sunflower and, proven that fact, to analyze interspecific hybrid progenies to assess hybridization rate, persistence of crop alleles in wild populations, and the consequences of gene flow on wild plants fitness and on their relationships with other ecosystem components.

A previous study assessed the occurrence of interspecific crosses in both directions of gene flow: crop-to-wild and wild-to-crop. Off-type plants were found among progenies of both pure species, with frequencies of 0.5% and 0.3%, respectively. Those atypical plants showed intermediate values for morphological characters between both parental species, and low fertility.

Given the evidence of presumable hybrids amongst pure population progenies of both species flowering in coincidence, interspecific hybrids between sunflower and *H. petiolaris* were detected through molecular analysis. Moreover, crop alleles were detected within wild populations. RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) markers were used and demonstrated that frequency of crop specific marker introgression in wild populations was very low (0.02).

Some first generation hybrids were partially fertile and produced morphologically and molecularly identifiable offspring, which allowed evaluation of the persistence of crop alleles in the wild populations.

Three experiments were performed to evaluate advanced generation hybrids, using *H. petiolaris* and sunflower crop plants as testers: a) Progenies of controlled crosses in a common garden, with controlled backcrosses to plants of the respective wild population, and open pollinated crosses with the pollen community of the experimental field; b) Progenies of natural crosses in the wild; and c) Progenies of natural crosses raised in a common garden. Metric and categorical morphological traits were registered, also molecular markers for the first experiment. Hybrid progenies were different from the parental species, showing intermediate morphology and more similarity to *H. petiolaris* for some traits. Also crop specific markers were found among

interspecific hybrid progenies, demonstrating that sunflower crop alleles can persist in *H. petiolaris* populations for some generations following hybridization.

Gene flow between crops and wild relatives can originate hybrids with a reduced fitness compared to their wild parents. Fitness was studied in advanced generations of crosses among *H. petiolaris* x cultivated sunflower, comparing first generation open pollinated crop-wild progenies, second generation progenies, backcrosses to the respective wild population, and *H. petiolaris* plants. The studied traits were germination and dormancy, pollen viability, reproductive phenology, head number, seed set and dry biomass. The results showed that sunflower crop gene introgression in wild populations reduced the progeny fitness. First and second open-pollinated progenies had lower fitness compared to *H. petiolaris* whereas backcrosses had intermediate values. All fitness parameters tended to recover in the generations following hybridization.

Characters from the crop genome could alter biotic interactions between a wild genotype and its environment. To test this hypothesis, first generation wild-crop progenies from open pollination and *H. petiolaris* plants were defied by fungal diseases and an insect attack. The results showed that wild populations were very little affected by the insect attack and diseases, compared to hybrid progenies, finding high significant differences for four out of five observed adversities. Sunflower crop gene flow in *H. petiolaris* affected biotic interactions among plants and their predators, showing that crop genes alter ecological relationships in wild populations.

The obtained results point that agronomical traits incorporated to novel sunflower varieties by mutation or biotechnology (transgenes) very likely will alter the populations of *H. petiolaris*, a wild species that constitute a valuable germplasm source for sunflower crop genetic breeding. Also they could exacerbate invading weed traits in those populations.