

Respuesta de los antecios de cultivares de *Avena sativa* L. y *Avena byzantina* C. Koch a la luz ultravioleta

Moya, M.E.; A.A. Galussi; L.R. Zimmermann y G.I. Soldá

RESUMEN

Se caracterizaron cultivares de *Avena sativa* (avena blanca) y *Avena byzantina* (avena amarilla) mediante la respuesta de los antecios a la luz ultravioleta (UV) y se determinaron los perfiles proteicos de aveninas para las fracciones de antecios fluorescentes y no-fluorescentes. Se utilizó la técnica de fluorescencia y de electroforesis en gel de poliacrilamida para aveninas. Se calcularon los intervalos de confianza para el porcentaje de antecios fluorescentes y no-fluorescentes. En el análisis de electroforesis se observó presencia/ausencia de los componentes proteínicos y se determinó el perfil proteico característico en cada cultivar. Al ser expuestos ante la luz UV cada cultivar presentó en su muestra de semillas proporciones de antecios fluorescentes o no-fluorescentes, manifestando tales proporciones similares electroforegramas de aveninas. El uso de la UV resultó limitado para indicar la especie a la cual pertenecen los cultivares de avena blanca y de avena amarilla.

Palabras clave: *Avena sativa* L., *Avena byzantina* C. Koch, semillas, fluorescencia, aveninas, electroforesis.

Moya, M.E.; A.A. Galussi; L.R. Zimmermann y G.I. Soldá, 2003. Response of florets in cultivars of *Avena sativa* L. and *Avena byzantina* C. Koch to ultraviolet light. Agriscientia XX: 85 - 88

SUMMARY

The objective of this paper was to characterize cultivars of *Avena sativa* (white oat) and *Avena byzantina* (yellow oat) by testing the response of florets to ultraviolet light (UV) and by determining avenine proteinic profiles in fractions of fluorescent and non-fluorescent florets. Fluorescence and electrophoretic techniques in polyacrylamide gel were used to evaluate avenines. Confidence

intervals were calculated for the percentages of fluorescent and non-fluorescent florets. Presence/absence of proteinic components was observed in electrophoretic analysis and the characteristic proteinic profile of each cultivar was determined. Each cultivar when exposed to UV light presented proportions of fluorescent and non-fluorescent florets with similar avenine electrophoretic patterns. Although PAGE avenine analysis permitted the differentiation of the analysed cultivars, it did not group / categorize them according to the species in which they are registered. UV proved to have limited importance to differentiate white and yellow oat at the level of species.

Key words: *Avena sativa* L., *Avena byzantina* C. Koch, seeds, fluorescence, avenines, electrophoresis

Moya, Ma. E.; A.A. Galussi; L.R. Zimmermann y G.I. Soldá. Facultad de Ciencias Agropecuarias - Universidad Nacional de Entre Ríos. CC 24 (3100) Paraná, Entre Ríos, República Argentina. E-mail: cultivar@fca.uner.edu.ar

En avena, el test de fluorescencia se basa en hacer visible un compuesto químico presente en las glumelas llamado escopoletina (6-metoxi-7-hidroxiumarína) el cual expresa una luminiscencia azul (fluorescencia) cuando se colocan bajo la luz ultravioleta (UV). Este carácter inicialmente fue comunicado por Goodwin & Kavanagh (1948, 1949), y según Jones (1952) las glumelas de las semillas de *Avena sativa* reflejaban la luz azulada pálida de la radiación UV y se veían fluorescentes, mientras que en las glumelas de *Avena byzantina* este fenómeno no ocurría y por eso se manifestaban opacas. Finkner *et al.* (1954), Chang & Sadanaga (1964) y Sadanaga (1970) informaron que existen dos genes independientes, *F* y *L*, responsables de que se presente la fluorescencia cuando se encuentran uno o ambos alelos dominantes; el gen *F* está sobre el cromosoma 7 y el gen *L* sobre un cromosoma diferente. El ensayo de la luz UV es mencionado en el Manual de identificación de especies y cultivares (ISTA, 1993a) y en las Reglas para Análisis de Semillas (ISTA, 1999) como un posible análisis para diferenciar especies de *Avena*, aunque en la actualidad no se registran antecedentes sobre la utilidad práctica. La respuesta de los antecios a la luz UV es un descriptor requerido para la inscripción de cultivares argentinos de avena en el Registro Nacional de Cultivares, Anexo II, pero los cultivares inscritos no presentan esta información.

Las prolaminas (aveninas en avena) son proteínas heterogéneas, estables y codificadas genéticamente (Souza & Sorrel, 1990); los patrones obtenidos por técnicas como PAGE (ISTA, 1999) llegan a caracterizar especies y cultivares de *Avena* (Kim *et al.*, 1979; Peterson *et al.*, 1988) dando información

de la variabilidad genética dentro de poblaciones morfológicamente homogéneas, mezclas y poblaciones autógamias (Gottlieb, 1981; Ohms, 1981; Arus, 1983). Dada la estabilidad de este carácter se consideró posible su uso como una herramienta a fin de conocer la posible variabilidad en los antecios fluorescentes/no-fluorescentes hallados en un cultivar, e indicar con más certeza el potencial de la UV para distinguir especies y cultivares de *A. sativa* (avena blanca) y de *A. byzantina* (avena amarilla).

Se utilizaron antecios provenientes de lotes puros de cuatro cultivares de *Avena sativa* L.: Máxima INTA, Don Víctor INTA, INIA Le Tucana y Boyera F.A., y cuatro de *A. byzantina* C. Koch: Millauquén INTA, Buck Epecuén, Tampera F.A. y La Previsión 13.

Para conocer la respuesta de los antecios a la luz ultravioleta (UV) se evaluaron 1000 antecios por cultivar, según la técnica mencionada en AOSA (1991) e ISTA (1993b). Las semillas se colocaron sobre una superficie oscura y se las expuso bajo una lámpara de luz ultravioleta (UV) 250 W, 300-400 nm (λ). En cada cultivar se determinó el porcentaje de antecios fluorescentes y no-fluorescentes y se calcularon los intervalos de confianza $(1-\alpha) = 0,95$ para cada proporción.

Sobre cada fracción (antecios fluorescentes y antecios no-fluorescente) se realizó el método de electroforesis de aveninas, en gel de poliacrilamida (PAGE) pH 3,1 (ISTA 1999), con leves modificaciones (Moya *et al.*, 2002). Los electroforegramas se examinaron por transparencia y se escanearon, observándose el número, la movilidad e intensidad de cada componente proteico (bandas). A fin de lograr una mejor comparación entre éstos, se colocaron en

un mismo gel para su electroforesis muestras de extracto proteico de ambas fracciones (fluorescentes y no fluorescentes) de todos los cultivares. Se construyó una matriz de datos asignando 1 a las bandas presentes y 0 a las ausentes. Tales datos se procesaron con software Infostat (2002) mediante análisis de conglomerados con el método de encadenamiento completo. La distancia de disimilitud entre cultivares se calculó de acuerdo a Jaccard (1908).

Los resultados evidenciaron en un mismo cultivar proporciones de antecios fluorescentes y antecios no-fluorescentes (Tabla 1). Pero estas proporciones no indican la especie a la cual pertenece el cultivar, posibilidad que sí existió en el pasado según Jones (1952) y Finkner *et al.* (1954). Es probable que los trabajos de mejoramiento genético hayan contribuido a la variabilidad de esta característica. Los cultivares de *A. byzantina* que supuestamente debían ser no fluorescentes se presentaron con elevados porcentajes de antecios fluorescentes (83 a 97%) y con bajas cantidades (3 a 17%) de no fluorescentes. Los cultivares de *A. sativa* manifestaron elevada proporción de antecios fluorescentes, aunque Boyera F.A. mostró un alto porcentaje (91-98%) de antecios no fluorescentes. Esto parece indicar la presencia de uno o ambos alelos dominantes en la mayoría de los antecios de siete cultivares y recesivos en el caso de Boyera F.A. Las proporciones menores de antecios que no responden igual al de la

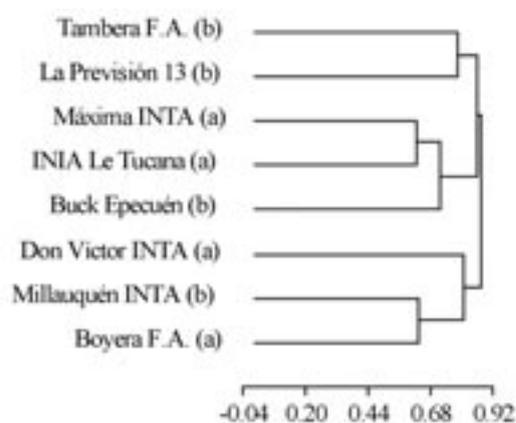


Figura 2: Dendrograma obtenido por el enlace completo, según los patrones electroforéticos de proteínas seminales en cultivares de (a) *A. sativa* (Máxima INTA, Don Víctor INTA, INIA Le Tucana y Boyera F.A.) y (b) *A. byzantina* (Millauquén INTA, Buck Epecuén, Tambera F.A. y La Previsión 13). Distancia (1-Jaccard) Coeficiente de correlación cofenética: 0,718.

Tabla 1: Intervalos de confianza para el porcentaje de antecios fluorescentes y no fluorescentes de cultivares de *A. sativa* y *A. byzantina* ($1-\alpha = 0,95$; $n = 1000$ semillas)

Cultivares	Antecios (%)	
	Fluorescentes	No Fluorescentes
<i>Avena byzantina</i>		
Millauquén INTA	[90;94]	[6;10]
Buck Epecuén	[90;94]	[6;10]
Tambera F.A	[95;97]	[3;5]
La Previsión 13	[83;87]	[13;17]
<i>Avena sativa</i>		
Máxima INTA	[95;97]	[3;5]
Don Víctor INTA	[98;100]	[0;2]
Boyera F.A	[5;9]	[91;95]
INIA Le Tucana	[99,7;100]	[0;0,03]

mayoría de ellos indican, según Payne *et al.* (1982), cierta heterocigosis o fecundación cruzada, razón por la cual semillas fluorescentes o no fluorescentes producen en cierta proporción progenie con diferente respuesta a la UV.

Los electroforegramas resultantes de las fracciones de antecios fluorescentes y antecios no-fluorescentes de un mismo cultivar (Fig. 1) no manifestaron diferencias entre sí en cuanto a la presencia/ausencia de bandas en el gel. Esto puede sugerir que en un cultivar la fracción de antecios con diferente respuesta a la UV respecto del de la mayoría de ellos, no es un indicador apropiado para detectar la impureza de un cultivar en la muestra de semilla. Los componentes proteicos (bandas) hallados en estos electroforegramas coinciden con los citados por Mo-

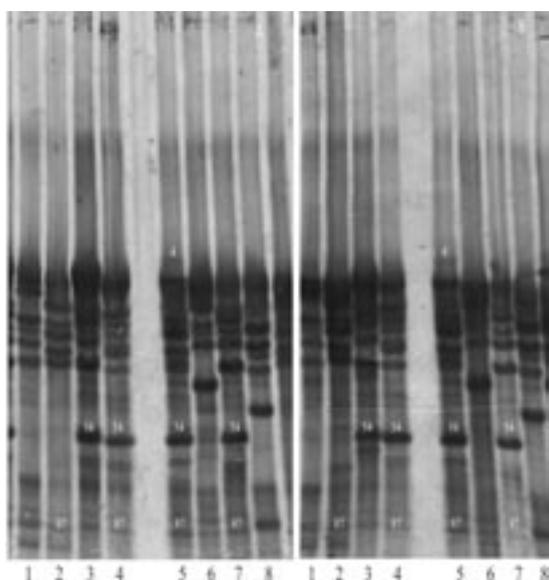


Figura 1: Electroforegrama de aveninas de (A) antecios fluorescentes y (B) antecios no-fluorescentes en cultivares de *A. sativa*: (1) INIA Le Tucana, (2) Máxima INTA, (3) Don Víctor INTA, (4) Boyera F.A. y cultivares de *A. byzantina*: (5) Tambera F.A., (6) La Previsión 13, (7) Millauquén INTA, (8) Buck Epecuén. Los números en el gel indican la posición de las bandas 4, 54 y 87

ya *et al.* (2002) para los patrones electroforéticos determinados para los ocho cultivares. El análisis de aveninas resultó útil como carácter discriminante entre cultivares, aunque el agrupamiento que surge del análisis de conglomerados (Fig. 2) no manifestó grupos que reúna cultivares de una misma especie.

Al ser expuestos ante la luz UV los cultivares presentaron antecios fluorescentes y no fluorescentes en la misma muestra; tales fracciones en caso de pertenecer a un mismo cultivar no mostraron diferencias en los perfiles proteicos de aveninas fraccionados por PAGE. El uso de la UV resultó limitado para indicar la especie a la cual pertenecen los cultivares de avena blanca y de avena amarilla.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con aporte de la UNER al PID N° 2037 y de la Beca de Cuarto Nivel otorgada al primer autor para acceder al Magister en Ciencias Agropecuarias, UNC.

BIBLIOGRAFÍA

- Arus, P. 1983. Genetic purity of commercial seed lots. In: Bickelmann, U. 1993. On fatuoides and hybrids of *Avena* spp. and their significance for seed production. III Description by prolamin electrophoretic characters. *Plant Varieties and Seeds* 6: 65-73.
- AOSA 1991. Association of Official Seed Analysis. *Cultivar Purity Testing Handbook*, 78 pp.
- Chang, T.D. and K. Sadanaga. 1964. Crosses of six monosomics in *Avena sativa* L. with varieties, species and chlorophyll mutants. *Crop Science*. 4: 589-593. In: ISTA, 1993b. *Handbook of Variety Testing. Rapid Chemical Identification Techniques*, pp. 3
- Finkner, R.E.; H.C Murphy; R.E Atkins and D.W. West. 1954. Varietal reaction and inheritance of fluorescence in oats. *Agronomy Journal*, pp. 270-274.
- Gottlieb, L.D. 1981. Electrophoretic evidence and plant populations. In: Bickelmann, U. 1993. On fatuoides and hybrids of *Avena* spp. and their significance for seed production. III Description by prolamin electrophoretic characters. *Plant Varieties and Seeds* 6: 65-73.
- Goodwin, R. and F. Kavanagh. 1948. Fluorescing substance in roots. *Bull. Torrey Club*. 75: 1-7. In: Finkner, R.E.; H.C Murphy; R.E Atkins and D.W. West. 1954. Varietal reaction and inheritance of fluorescence in oats. *Agron. J.*, pp. 270-274.
- Goodwin, R. and F. Kavanagh. 1949. The isolation of scopoletin, a blue-fluorescing compound from oat roots. *Bull. Torrey Club*. 76: 255-265. In: Finkner, R.E.; H.C Murphy; R.E Atkins and D.W. West. 1954. Varietal reaction and inheritance of fluorescence in oats. *Agron. J.*, pp. 270-274.
- Infostat. 2002. *Infostat*. Version 1.1. FCA. Universidad Nacional de Córdoba, pp. 161-169
- ISTA. 1993a. *International Seed Testing Association. Handbook of Variety Testing. Rapid Chemical Identification Technique*. Zurich. Switzerland, pp. 11
- ISTA. 1993b. *International Seed Testing Association. Seed Science and Technology*. 21. Supplement Rules. Zurich, Switzerland, pp. 217-228.
- ISTA. 1999. *International Seed Testing Association. Seed Science and Technology* 27. Supplement Rules. Zurich. Switzerland, pp. 263-266
- Jaccard, P. 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.* 44: 223-270.
- Jones, B. 1952. Treatments of Boone oats and observation under ultraviolet light. *Proc. of Assoc. of Official Seed Analysts*, pp. 80-82. In: Coffman, F. 1961. *Oats and Oat Improvement*. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin, pp. 186-188.
- Kim, S.I.; L. Saur and J. Mossé. 1979. Some features of the inheritance of avenins, the alcohol soluble proteins of oat. *Theor. Appl. Genet.* 54: 49-54. In: Marshall, H.G. and M.E. Sorrels. 1992. *Oat Science and Technology. Series Agronomy*. Crop Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA 15: (33) 509-571.
- Moya, M.E.; A.A. Galussi; P.D. Reinoso y G.I. Soldá. 2002. Caracterización varietal de *Avena sativa* L. y *Avena byzantina* C. Koch por electroforesis de aveninas y proteínas totales en semillas. *Revista Científica Agropecuaria*. Facultad de Ciencias Agropecuarias. UNER 6: 41-47.
- Ohms, J.P. 1981. Identifizierung deutscher hafersorten mittels elektrphorese der endospermproteine. *Landwirtschaftliche Forschung*. 34 (3): 89-94. In: Bickelmann, U. 1993. On fatuoides and hybrids of *Avena* spp. and their significance for seed production. III Description by prolamin electrophoretic characters. *Plant Varieties and Seeds* 6: 65-73.
- Payne, R.C.; T.J. Koszykowski and L.F. Morris. 1982. An evaluation of the oat seed fluorescent test. *AOSA - New Letter* 56: 41-50.
- Peterson, D.M.; B.L. Jones and L.A. Marinac. 1988. Oat cultivar identification by electrophoresis of seed proteins. p. 371. In: Marshall, H.G; Sorrels, M.E. (1992). *Oat science and Technology. Series Agronomy*. Crop Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA 15 (33): 265-292.
- Sadanaga, K. 1970. Genetics and test of association of the fluorescence genes in hexaploide oats. *Crop Sci.* 10: 103-104.
- Souza, E. and M.E. Sorrells. 1990. Inheritance and distribution of variation at four avenin loci in North American oat cultivars. *Genome* 33: 416-424.