

# Cruzamientos artificiales y naturales del raps o colza (*Brassica napus* L.) con crucíferas silvestres y cultivadas<sup>1</sup>

Vital A. Valdivia B.<sup>2</sup> y M. Eugenia Badilla M.<sup>3</sup>

## INTRODUCCION

La información existente acerca de la forma de reproducción del raps señala que ésta es una especie de autofecundación que puede presentar un alto porcentaje de fecundación cruzada. Olsson (1960) indica que en condiciones de campo el raps se cruza naturalmen-

te por la acción de los insectos y el viento. Downey (1963) y Robinson (1964) coinciden en señalar que en la especie *B. napus* se produce alrededor de un 30 por ciento de polinización cruzada.

Como no existen antecedentes en el país acerca del porcentaje de polinización cruzada intervarietal e interespecífica que se puede producir en el raps se consideró de interés iniciar las investigaciones tendientes a obtener informaciones sobre la capacidad del raps para cruzarse natural o artificialmente entre sí o con otras crucíferas. Esto tendría importancia para el mejoramiento genético, la conservación de la pureza varietal, la producción

<sup>1</sup>Parte de la Tesis de grado presentada por M. Eugenia Badilla a la Escuela de Agronomía de la Universidad Católica de Valparaíso para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

Los autores desean expresar sus agradecimientos a la Laboratorista Químico Sra. M. Stella Moyano que tuvo a su cargo los análisis químicos de las semillas.

Recepción originales: 21 de junio de 1976.

<sup>2</sup>Ing. Agr., M. S., Programa Oleaginosas, Estación Experimental La Platina, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), Casilla 5427, Santiago, Chile.

<sup>3</sup>Ing. Agr., Correo, Sagrada Familia, Curicó, Chile.

de semilla y el cultivo en escala comercial de variedades libres de ácido erúxico.

En relación con el ácido erúxico, Downey y Harvey (1963), Stefansson y Hougen (1964) y Kondra y Stefansson (1965) informan que la expresión de este carácter lo determina la constitución genética del embrión de la semilla y que hay un efecto directo del polen en la proporción en que se encuentra en el aceite (efecto de xenia). Este efecto directo del polen en la composición de ácidos grasos del aceite de raps se aprovechó en este estudio para verificar si efectivamente hubo polinización cruzada. Para este efecto se usó como progenitor femenino, tanto en las cruza manuales como naturales, a la variedad de raps Oro, que es un cultivar que no posee este ácido (Valdivia, 1972)<sup>1</sup>.

### MATERIALES Y METODOS

El estudio se realizó durante los años 1972 y 1973 en la Estación Experimental La Platina de Santiago.

Las especies usadas fueron: *Brassica napus* L., *Brassica campestris* L., *Brassica pekinensis* (Lour) Rupr., *Brassica oleracea* var. *acephala* D. C., *Sinapis alba* L., *Raphanus sativus* L. y *Rapistrum rugosum* (L) All.

Los cruzamientos se hicieron en forma manual y natural, usándose en todos a la variedad de raps Oro como progenitor femenino.

Para las cruza manuales hubo necesidad de sembrar las especies *B. napus* cultivares Oro y Norin 16, *B. campestris*, *B. pekinensis*, *B. oleracea* var. *acephala* y *S. alba*. Para obtener polen de las especies *R. sativus* y *R. rugosum* se recurrió a plantas silvestres.

El cruzamiento manual comprendió la castración de las flores usadas como hembras, la elección de flores de las plantas macho con polen suficiente como para asegurar la polinización y la protección de las flores fecundadas, con bolsas de papel.

Las cruza naturales fueron de *B. napus* cultivar Oro con *B. napus* cultivar Norin 16 y *B. napus* cultivar Oro con *B. campestris*.

Para facilitar la cruza natural de *B. napus* x *B. campestris* se sembraron ambas especies en hileras alternadas de 20 metros de largo y separadas a 0,50 m en un lugar aislado por más de 500 metros de cualquiera otra siembra

de raps. En esta siembra se marcaron y cosecharon las plantas y racimos florales de la variedad Oro que coincidieron en florescencia con el yuyo.

Para evaluar la factibilidad de cruzamiento natural entre Oro y Norin 16 se aprovechó un ensayo de variedades donde ambas variedades estaban contiguas.

Tanto en los cruzamientos manuales como naturales se autofecundaron algunas flores del cultivar Oro a fin de disponer de semilla pura. El contenido de ácido erúxico de esta semilla comparado con el de la semilla cosechada de las flores que habían sido cruzadas permitió determinar si realmente se había producido la fecundación cruzada.

Además de determinar la composición en ácidos grasos de los progenitores y de sus F<sub>1</sub>, se analizó también el contenido de materia grasa de los progenitores y se hicieron observaciones acerca del número de semillas producidas por los cruzamientos y las autofecundaciones y del largo del período siembra-florescencia de algunas especies.

La determinación del contenido de materia grasa se hizo mediante el método de Troeng (Troeng, 1955).

Para analizar el porcentaje de ácidos grasos se usó un cromatógrafo Perkin Elmer 990 con las siguientes especificaciones de la columna:

1. Acero inoxidable: 1,80 m de largo y 3 mm de diámetro interno.
2. Soporte líquido: Chromosorb W (60-80 mallas).
3. Fase líquida: Dietilen glicol succinato (DEGS).
4. Temperatura columna: 170-175°C.
5. Gas de arrastre: Nitrógeno con flujo de 30 mil/min.

Para calcular el porcentaje de ácidos grasos se midió el área ocupada por cada uno de ellos en los cromatogramas. Sólo se calcularon los ácidos grasos principales: palmítico (16:0), oleico (18:1), linoleico (18:2), linoléico (18:3), eicosenoico (20:1) y erúxico (22:1).

### RESULTADOS Y DISCUSION

#### *Contenido de aceite y composición en ácidos grasos de las especies*

El contenido de aceite, base materia seca, de las especies crucíferas usadas en la investigación, fluctuó entre 27% y 48% (Cuadro 1).

<sup>1</sup>Valdivia, B. V., 1972. Raps o Colza (*Brassica napus* L.), Variedad Oro. Informe presentado al Comité del Registro Nacional de Especies y Variedades aptas para la certificación. Santiago, Chile (No publicado).

Cuadro 1 — Contenido de aceite y composición en ácidos grasos de 7 especies perteneciente a la familia Crucíferas.

Especie	Aceite	A C I D O S   G R A S O S					
		Palmi-	Olei-	Lino-	Linolé-	Eicose-	Erúcido
		tico	co	leico	nico	noico	
Porcentajes							
<i>B. napus</i> var. Oro (raps)	44,0	5,5	62,3	22,9	9,4	0,0	0,0
<i>B. napus</i> var. N. 16 (raps)	48,0	5,1	16,1	16,4	10,4	8,4	43,2
<i>B. campestris</i> (yuyo)	38,2	6,1	23,5	15,2	6,6	14,0	34,7
<i>B. pekinensis</i>	39,1	4,8	19,8	15,9	15,8	8,9	34,8
<i>B. oleracea</i> var. <i>acephala</i> (col forrajera)	36,9	9,3	20,4	21,8	11,4	5,5	30,2
<i>S. alba</i> (mostaza blanca)	27,5	5,7	30,3	14,4	7,8	10,4	31,3
<i>R. sativus</i> (rábano)	40,9	2,8	22,7	16,2	21,3	8,1	28,8
<i>R. rugosum</i>	36,4	9,2	11,8	14,4	28,3	6,3	32,3

La composición en ácidos grasos del aceite mostró una característica común para todas las especies, cual fue la presencia en cantidades variables del ácido erúcido (Cuadro 1). La excepción la constituye la variedad Oro, lo que es obvio ya que ella es el resultado de un trabajo de mejoramiento genético efectuado en Canadá destinado a producir cultivares sin ácido erúcido.

*Largo del periodo vegetativo siembra-florescencia de las especies B. napus, B. campestris, B. pekinensis y S. alba.*

Con el objeto de averiguar si se produce simultaneidad de florescencia entre *B. napus* cultivares Oro y Norin 16 y las especies *B. campestris*, *B. pekinensis* y *S. alba*, se tomaron las fechas de comienzo y término de flor de cada una de ellas. Los datos que se muestran en el Cuadro 2 indican que dentro del periodo relativamente largo en que estas es-

Cuadro 2 — Días desde la siembra a comienzo y término de flor de las especies *B. napus*, *B. campestris*, *B. pekinensis* y *S. alba*.

Especies	Siembra-comienzo flor	Siembra-término flor
D í a s		
<i>B. napus</i> var. Oro	102	152
<i>B. napus</i> var. Norin 16	92	145
<i>B. campestris</i>	99	155
<i>B. pekinensis</i>	88	154
<i>S. alba</i>	94	150

pecies están produciendo flores, habrá siempre posibilidades de que muchas flores estén abiertas al mismo tiempo, lo cual constituye un requisito esencial para que en forma natural pueda eventualmente producirse polinización cruzada. De las otras especies, *B. oleracea* var. *acephala* es bianual y *R. sativus* y *R. rugosum* son malezas que no se sembraron por no disponer de semilla en suficiente cantidad.

*Semilla obtenida por autofecundación y polinizaciones manuales*

La gran cantidad de semilla obtenida al autofecundar las flores de *B. napus* (Cuadro 3) confirma lo que señala la literatura (Downey, 1963, y Robinson, 1964), en el sentido de que ésta es una planta preferentemente autógama.

Las cruza manuales de *B. napus* con *B. napus*, *B. campestris*, *B. pekinensis*, *B. oleracea* var. *acephala*, *S. alba* y *R. rugosum* produjeron semillas en cantidades variables (Cuadro 4).

El único cruzamiento interespecífico que no produjo semilla fue *B. napus* x *R. sativus*.

Entre los cruzamientos interespecíficos, los que mostraron mayor compatibilidad, fueron *B. napus* x *B. napus*, *B. napus* x *B. campestris* y *B. napus* x *B. pekinensis*. Según Pawlowski (1970), la razón de que sea relativamente fácil cruzar artificialmente a *B. napus* con *B. campestris* se debe a que ambos tienen un genomio en común, pues el raps es un anfidiplóide que se formó en la naturaleza por la

Cuadro 3 — Número de racimos florales autofecundados y semilla cosechada de la variedad Oro en 1972 y 1973.

Año	Nº de racimos florales autofecundados	Nº de racimos cosechados	Nº total de semilla cosechada	Promedio semilla por racimos cosechados
1972	12	9	1.064	118
1973	40	36	9.771	271

Cuadro 4 — Número de semillas obtenidas en cruzamientos manuales de especies crucíferas.

Cruzamiento	Nº de flores polinizadas	Nº de silicuas con semilla	Promedio semilla por silicua	Por ciento cruzas con semilla
<i>B. napus</i> var. Oro x <i>B. napus</i> N. 16	10	8	17	80
<i>B. napus</i> var. Oro x <i>B. campestris</i>	51	41	14	80
<i>B. napus</i> var. Oro x <i>B. pekinensis</i>	67	44	15	66
<i>B. napus</i> var. Oro x <i>B. oleracea</i>	30	3	1	10
<i>B. napus</i> var. Oro x <i>S. alba</i>	70	9	4	13
<i>B. napus</i> var. Oro x <i>R. rugosum</i>	17	2	6	12
<i>B. napus</i> var. Oro x <i>R. sativus</i>	26	0	0	0

cruza espontánea de las especies *B. oleracea* y *B. campestris*.

La comprobación de que la semilla cosechada de los cruzamientos era efectivamente híbrida y no producto de autofecundaciones, se deduce del contenido de ácido erúxico. Mientras que la semilla de la variedad Oro proveniente de las flores autofecundadas dio cero erúxico, aquella cosechada de las flores cruzadas dio un porcentaje de erúxico que varió entre 7 y 23% (Cuadro 5).

#### Semilla obtenida por polinización natural

La semilla de polinización abierta de la variedad Oro cosechada en las parcelas donde se sembró contigua a Norin 16, y en el campo aislado donde estuvo en hileras alternadas con *B. campestris*, dio cero contenido de erúxico (Cuadro 6). Esto estaría indicando que en condiciones naturales no hubo polinización intervarietal ni interespecífica. El hecho de que no

Cuadro 5 — Contenido de ácido erúxico de la semilla (embrión F<sub>1</sub>) de *B. napus* cultivar Oro proveniente de autofecundaciones y de cruzas manuales intervarietales e interespecíficas.

Origen semilla	Acido erúxico semilla F <sub>1</sub> %	Acido erúxico de los progenitores masculinos %
<i>B. napus</i> var. Oro (semilla de autofecundación)	0,0	0,0
<i>B. napus</i> var. Oro x <i>B. napus</i> var. Norin 16	23,1	43,2
<i>B. napus</i> var. Oro x <i>B. campestris</i>	15,6	34,7
<i>B. napus</i> var. Oro x <i>B. pekinensis</i>	7,5	34,8
<i>B. napus</i> var. Oro x <i>B. oleracea</i> var. <i>acephala</i>	11,3	30,2
<i>B. napus</i> var. Oro x <i>S. alba</i>	10,6	31,3
<i>B. napus</i> var. Oro x <i>R. rugosum</i>	8,3	32,3

Cuadro 6 — Contenido de ácido erúxico de la semilla (embrión F<sub>1</sub>) de la variedad de raps Oro proveniente de autofecundación y de polinización abierta en cruza- mientos naturales.

Origen Semilla	Acido erúxico %
<i>B. napus</i> var. Oro (semilla de autofecundación)	0,0
<i>B. napus</i> var. Oro x <i>B. napus</i> var. Norin 16 (semilla de polinización abierta)	0,0
<i>B. napus</i> var. Oro x <i>B. campestris</i> (semilla de polinización abierta)	0,0

hubiera cruzamiento natural entre dos cultiva- res de *B. napus* está en desacuerdo con lo infor- mado por Downey (1963) y Robinson (1964) acerca de que en el raps se presenta en prome- dio sólo un 70 por ciento de autopolinización. Sin embargo, Borzutzky (1970), al analizar contenido de erúxico a semilla de la variedad

Oro, proveniente de ensayos de variedades de La Platina, donde estaba sembrada con varie- dades de alto contenido de erúxico, obtuvo también valores de cero erúxico para esta varie- dad. Cabe consignar que en La Platina el raps en flor es visitado por un alto número de abe- jas.

## R E S U M E N

Durante los años 1972 y 1973 se realizó en la Estación Experimental La Platina, un estudio destinado a evaluar la capacidad de cruzamiento intervarietal e interespecífico del raps o colza (*Brassica napus* L.).

En forma manual se cruzó *B. napus* cultivar Oro con las siguientes especies: *B. napus* cultivar Norin 16, *B. campestris*, *B. pekinensis*, *B. oleracea* var. *acephala*, *S. alba*, *R. ru- gosum* y *R. sativus*.

Las cruza naturales fueron de *B. napus* Oro con *B. napus* Norin 16 y con *B. cam- pestris*.

Para determinar el porcentaje de fecundación cruzada producida por polinización manual, se hizo el recuento del número de flores polinizadas artificialmente y el nú- mero de semillas producidas.

Para comprobar si la semilla obtenida de las cruza artificiales y naturales era real- mente híbrida y no producto de la autofecundación, se le analizó el contenido de ácido erúxico, aprovechando que en la expresión de este carácter hay efecto de xenia. Para tal efecto se usó en todos los cruzamientos como progenitor femenino al culti- var Oro, la cual es una variedad sin erúxico.

Los resultados obtenidos indicaron que es factible cruzar manualmente a *B. napus* con *B. napus* y con las especies *B. campestris*, *B. pekinensis*, *B. oleracea* var. *acepha- la*, *S. alba* y *R. rugosum*. En estos cruzamientos hubo mayor compatibilidad en las cruza *B. napus* x *B. napus*, *B. napus* x *B. campestris* y *B. napus* x *B. pekinensis*. La menor cantidad de semilla promedio se obtuvo con las cruza de *B. napus* con *B. ole- racea* var. *acephala* con *S. alba* y con *R. rugosum*. La cruza *B. napus* x *R. sativus* no produjo semilla.

En forma natural no hubo polinización cruzada entre *B. napus* cultivar Oro y *B. napus* cultivar Norin 16 y entre *B. napus* var. Oro y *B. campestris*.

## S U M M A R Y

ARTIFICIAL AND NATURAL CROSSES BETWEEN RAPESEED (*Brassica napus* L.) AND WILD AND CULTIVATED CRUCIFEROUS

Intervarietal and interspecific crosses between *Brassica napus* L. and cultivated and wild species belonging to the Cruciferae family were studied in 1972 and 1973 at La Platina Experiment Station.

The zero erucic acid rapeseed variety Oro was crossed by hand with *B. napus* cultivar Norin 16, *B. campestris*, *B. pekinensis*, *B. oleracea* var. *acephala*, *Sinapis alba*, *Rapistrum rugosum* and *Raphanus sativus*.

*B. napus* Oro was planted with *B. campestris* in isolated field and with *B. napus* Norin 16 in close plots to induce natural crosses.

Proportion of artificial crosses were evaluated by counting the number of pollinated flowers and harvested seeds.

The evidence that the seed harvested on the cultivar Oro mother plants were hybrid and not selfed seed was obtained through the analysis of the erucic acid content since pollen source exert a direct effect on the composition of the oil (xenia effect).

It was possible to make artificial crosses of *B. napus* cultivar Oro with *B. napus* cultivar Norin 16, *B. campestris*, *B. pekinensis*, *B. oleracea* var. *acephala*, *S. alba* and *R. rugosum*.

The compatibility was higher between the crosses *B. napus* x *B. napus*, *B. napus* x *B. campestris* and *B. napus* x *B. pekinensis*, and lower in the crosses *B. napus* x *B. oleracea* var. *acephala*, *B. napus* x *S. alba* and *B. napus* x *R. rugosum*. There was total incompatibility in the cross *B. napus* x *R. sativus*.

It did not occur cross-pollination between cultivar *B. napus* Oro and *B. napus* cultivar Norin 16 and between *B. napus* Oro and *B. campestris* when grown close to one another.

## L I T E R A T U R A C I T A D A

- BORZUTZKY, J. H. 1970. Composición en ácidos grasos, contenido en isotiocianatos y 5-vinil-2-tiooxazolidona en semillas de raps provenientes de cinco Estaciones Experimentales. Santiago, Chile. Universidad de Chile (Tesis Facultad de Química y Farmacia, mimeografiada).
- DOWNEY, R. K. 1963. Oil quality in rapeseed. Canadian Food Industries pp. 1-4.
- , and HARVEY, B. L. 1963. Methods of breeding for oil quality in rape. Can. J. Plant Sc. 43: 271-275.
- KONDRA, Z. P. and STEFANSSON, B. R. 1965. Inheritance of erucic and eicosenoic acid content of rapeseed (*Brassica napus* L.). Can. J. Genet. Cytol. 7: 505-510.
- OLSSON, G. 1960. Self-incompatibility and outcrossing in rape and white mustard. Heredity 46: 241-252.
- PAWLOWSKI, S. H. 1970. Commercial potential of interspecific crosses among several Brassica species. In "Proceedings of the International Conference on the Science, Technology and Marketing of Rapeseed". Ste. Adele. Canadá. pp. 472-475.
- ROBINSON, R. G. 1964. Mustard and Rape oilseed Crops for Minnesota. Extension Bulletin 311. U.S. Dept. of Agriculture. 12 p.
- STEFANSSON, B. R. and HOUGEN, F. W. 1964. Selection of rape plants (*Brassica napus* L.) with seed oil practically free from erucic acid. Can. J. Plant Sc. 44: 359-364.
- TROENG, S. 1955. Oil determination of oilseed. Gravimetric routine method. J. Amer. Oil Chem. Soc. 32: 124-126.