

ESTUDIO GENETICO DEL CARACTER ALTO OLEICO EN EL GIRASOL (Helianthus annuus L.) Y SU COMPORTAMIENTO A DISTINTAS TEMPERATURAS.

L.C. Alonso.

Koipesol, S.A., Avda. San Francisco Javier, 24, 41005 Sevilla, España.

Resumen:

La utilización de tres cámaras de crecimiento forzado, graduadas a tres temperaturas constantes (10°C, 20°C y 30°C) y 16 horas de luz, ha permitido estudiar el contenido de oléico en líneas de girasol (Helianthus annuus L.) homocigóticas para el carácter alto oléico (HO), líneas de tipo convencional (LO), la semilla F1 (HOxLO o LOxHO) producida en cada tipo polinizado con el otro, así como de la semilla F2 producida en plantas F1 autofecundadas y la semilla BC1 del cruce F1 x LO. El porcentaje de oléico aumentó en todos los genotipos entre 10°C y 20°C, aunque con diferente pendiente, siendo la máxima la de la semilla F2. Entre 20°C y 30°C, se produjo aumento de oléico en todos los genotipos, excepto en el HO y en la semilla F2, en los que se produjo una reducción en el contenido de este ácido graso. En los casos en que se produjo aumento, entre 20°C y 30°C el incremento fué menor que entre 10°C y 20°C. La semilla F2 producida a 20°C tuvo un contenido de oléico muy similar al de los genotipos HO y por encima del 80%. Los genotipos LO pueden producir contenido de oléico por encima del 74% cuando se cultivan a temperaturas constantes de 30°C. La contaminación de plantas HO y F1 con polen de plantas LO puede reducir considerablemente el contenido de oléico. La contaminación de plantas LO con polen de plantas HO, aumenta considerablemente el porcentaje de oléico. La segregación genética semilla a semilla en cruces de prueba BC1 de plantas (HOxLO) x LO fué 1:1 Alto vs. Bajo oléico a las temperaturas (10°C, 20°C y 30°C). Sin embargo el valor para hacer la división fué distinto a las tres temperaturas (20%, 45% y 57% respectivamente). La segregación genética en las semillas F2 de plantas F1 autofecundadas fueron distintas a las tres temperaturas. A 30°C, la segregación fué 1:2:1 para valores de oléico >80%:65%-80%:<65% respectivamente. A 10°C también fué 1:2:1 pero para valores de oléico >75%:20-75%:<20% respectivamente. A 20°C la segregación fué 3:1 para valores >87%:<87%, siendo la distribución para valores mayores de 87% casi continua. Sin embargo, si se contabilizan valores mayores de 89% y de 87% a 89% entonces la distribución se convertirá en 1:2:1. Estos resultados indican que el contenido alto de oléico está condicionado por un gen con acción semidominante que puede parecer dominante según la temperatura a que se cultivan las plantas.

Introducción:

La calidad del aceite de girasol (Helianthus annuus L.) generalmente se asocia con su contenido relativamente alto de ácido linoléico (18:2), un ácido graso poliinsaturado. Esta característica se observa tanto en el girasol cultivado como en el silvestre (Seiler, 1.983). Sin embargo, un trabajo reciente (Grundy, 1.986) indica que las dietas ricas en ácidos grasos monoinsaturados reducen las lipoproteínas portadoras de colesterol de baja densidad en la sangre y no tiene efecto sobre el nivel de triglicéridos o de lipoproteínas portadoras de colesterol de alta densidad, cuando se compara con una dieta rica en ácidos grasos saturados. El autor sugiere que una dieta con una grasa rica en ácido oléico (18:1), un ácido graso monoinsaturado, podría usarse de forma efectiva para reducir el colesterol en la sangre.

En los genotipos comerciales de girasol normalmente utilizados, los porcentajes de ácidos oléico y linoléico varían ampliamente dependiendo de la temperatura durante el desarrollo de la semilla (Grindley, 1.952). Se ha demostrado que el contenido de ácido linoléico en las semillas de girasol descendía de casi un 75% a 10°C hasta un 30% a 26.5°C (Canvin, 1.965). El contenido de ácido oléico aumentó en ese estudio, con el incremento de temperatura, desde un 20% hasta un 63% respectivamente para las temperaturas antes mencionadas. Posteriormente han sido varios los trabajos que han mostrado esta correlación negativa entre los contenidos de ácidos oléico y linoléico dependiendo de la temperatura durante el desarrollo de la semilla (Harris *et al.*, 1.978; Robertson *et al.*, 1.978; Goynes *et al.*, 1.979; Kharchenko, 1.979). Esta correlación negativa se debe a que ambos ácidos grasos están en la misma cadena de biosíntesis, formándose ácido linoléico por desaturación de ácido oléico (Stump, 1.970).

Actualmente hay un gran interés en el desarrollo de variedades de girasol con un aceite de alto contenido en ácido oléico, ya que este tipo de aceite es menos susceptible a la oxidación durante la refinación, el almacenamiento y la fritura. Se puede calentar a más alta temperatura que el aceite convencional de girasol, sin humear, por lo que la comida se fríe antes absorbiendo menos aceite (Fuller, *et al.*, 1.967). En 1.976, Soldatov obtuvo por mutagénesis inducida la variedad Pervenets, con un alto contenido de ácido oléico. Mientras que los cambios de temperatura durante la formación de semillas afecta al contenido de ácidos oléico y linoléico en los genotipos convencionales, este efecto no se vio en la variedad Pervenets, que se mantuvo por encima de 80% a varias temperaturas (Kharchenko, 1.979) (Fernández Martínez, *et al.*, 1.986). Varios autores han desarrollado líneas puras a partir de Pervenets, que alcanzan contenidos de ácido oléico por encima del 90%.

Los estudios genéticos para desvelar el modo de herencia de este carácter han sido bastantes contradictorios. Así, Fick (1.984) encontró tres clases, alto, medio y bajo-oléico en la F₂ de cruces entre plantas de Pervenets y una línea convencional. Agrupando las clases alta y media, obtuvo una segregación 3:1. En el retrocruce del F₁ con la línea HA 89 obtuvo una segregación 1:1 (intermedia:baja). Fick concluyó que el alto contenido de oléico está determinado por un gen simple parcialmente dominante al que designó O₁, y también encontró un efecto materno significativo.

Por otra parte, Urie (1.985) no encontró efecto materno en los cruces entre Pervenets y la línea P21. En dos de los cruces, los datos indican que el carácter de alto oléico está condicionado en Pervenets por un gen simple dominante. Sin embargo, la segregación en otro de estos cruces no se puede explicar con un gen simple dominante. Urie sugirió que algunas plantas de P21 llevan algún gen o genes modificadores que causan variación en el contenido de oléico. Estos estudios se realizaron en California, donde P21 puede llegar a tener más del 70% de ácido oléico en el aceite.

Miller *et al.*, (1.987) hicieron un estudio de control genético del contenido de ácido oléico en líneas puras derivadas de Pervenets, cruzándolas con la línea HA 89. Los cruces F₁ entre selecciones de Pervenets y HA 89 tuvieron mayor contenido de oléico que los recíprocos (52% y 39% respectivamente), indicando influencia materna, pero no completa herencia materna. También llegaron a la conclusión de que la composición del aceite de girasol está determinada por el genotipo de cada semilla individual y no por el genotipo de la planta que produce las semillas. Finalmente confirmaron la presencia

de un gen (O1) con acción semidominante como sugirió Fick, (1.984) y adicionalmente postularon la presencia de un segundo gen dominante M1 que modifica el contenido de oléico. Cuando este gen está en su forma recesiva homocigótica, $m_1 m_1$, y se combina con O1, el nivel de ácido oléico es mayor del 82%. La línea HA 89 tiene el alelo dominante M1 por lo que el genotipo O1-M1 produciría un contenido de oléico intermedio. El genotipo $o_1 o_1$ sería recesivo epistático al locus M1 y los genotipos con estos alelos producirían bajo contenido de oléico. Finalmente, concluyen que el gen O1 podría ser suficiente en climas cálidos para alcanzar contenidos del 85% o más de ácido oléico. Sin embargo para alcanzar estos valores en climas fríos sería necesario tener el gen O1 y los alelos recesivos $m_1 m_1$ del gen modificador.

Fernández-Martínez, et al., (com. per.) han llegado a la conclusión de que el alto contenido de oléico está controlado por la acción de tres genes complementarios O11, O12 y O13.

Los objetivos de este trabajo son: I) Estudiar el efecto de la temperatura en genotipos de alto oléico, bajo oléico y sus híbridos. II) Determinar el control genético del alto contenido de ácido oléico.

Materiales y Métodos

Para este estudio se han utilizado dos líneas puras del programa de Koipesol, S.A.: la línea convencional I 101, derivada por autofecundación repetida a partir de un sintético de varias variedades VNIIMK, que en adelante se designará como LO, y la línea de alto oléico, OLER, derivada por autofecundación repetida de un programa de retrocruzamientos entre un sintético de líneas restauradoras de Koipesol, S.A. y la variedad Pervenets, en adelante se designará HO. Ambas líneas son homogéneas para caracteres morfológicos.

Varias plantas de HO, LO y de F1 (LOxHO) se criaron en macetas hasta que estuvieron en botón floral. En este momento se llevaron 20 de cada tipo a tres cámaras de crecimiento forzado idénticas, reguladas por flujo de aire a través de la mesa, a tres temperaturas constantes 10°C, 20°C y 30°C; y con luz artificial durante 16 horas al día.

En cada una de estas cámaras se hicieron varios cruces HOxLO, LOxHO y retrocruces F1xLO con ayuda de emasculación manual. En los cruces del tipo LOxHO, se utilizaron líneas con androsterilidad citoplasmática del genotipo LO. En las polinizaciones se utilizó polen pre-recolectado. En los retrocruces F1xLO, se utilizó polen de una línea (I106) hermana de la línea I101A, ya que no se disponía de polen suficiente de esta línea. También se obtuvieron con las tres cámaras semillas F2 por autofecundación de F1 así como de las líneas LO y HO. El contenido de ácidos grasos se estudió planta por planta en los 6 genotipos antes descritos a las tres temperaturas. Adicionalmente, se estudió el contenido de oléico a las tres temperaturas semilla a semilla en varias plantas F1 autofecundadas, así como en los retrocruces F1xLO.

Resultados y Discusión

El periodo desde el inicio de la floración hasta la maduración fué muy corto en la cámara a 30°C mientras que duró cerca de tres meses a 10°C, siendo normal en la cámara a 20°C. Tanto el genotipo HO como el híbrido F1 sufrieron de una maduración prematura en la cámara a 30°C, con posible infección

en el tallo del hongo Sclerotium bataticola, produciendo ambos genotipos semilla muy poco llena y con poco contenido graso, en particular en el genotipo HO.

La Tabla 1 representa los rangos y las medias de varios genotipos de girasol cultivados a tres temperaturas constantes. El análisis de oléico se hizo en una muestra de la semilla producida por cada planta. La Figura 1, representa los valores medios de la Tabla 1. El contenido medio de oléico aumentó en los genotipos LO autofecundados de una forma prácticamente constante desde 20.2% a 10°C hasta 51.6% a 30°C, habiendo plantas individuales que alcanzaron valores de 74.6% de oléico. Esto confirma la enorme influencia del ambiente en el contenido de ácido oléico en los genotipos convencionales de girasol.

Los genotipos HO autofecundados tuvieron un contenido de oléico superior al 80% tanto a 10°C como a 20°C. A 30°C, el valor medio de estos genotipos fué de 60.6%. Sin embargo, las semillas individuales producidas en plantas F1, con genotipo HO, tuvieron un contenido de oléico cercano al 85%. Las plantas HO tuvieron semillas con muy poco contenido graso en la cámara a 30°C. La alta temperatura durante el desarrollo de la semilla está asociada con una reducción en el contenido graso de las semillas de girasol (Harris et al.; 1.978). A esto hay que unirle el efecto de la maduración prematura que tuvieron estas plantas. El valor observado de 60.6%, es muy inferior al valor que cabría haber obtenido de 85%, y puede deberse a que la proporción entre grasa estructural/grasa de reserva sea mayor en las semillas con poco contenido graso que en las de alto contenido graso.

Si se hace la media entre los contenidos observados de oléico, a las tres temperaturas, de los genotipos LO y HO, se obtienen los siguientes valores: 51.9% a 10°C, 65.8% a 20°C y 71.3% a 30°C; utilizando en este último caso el valor de 85% para el genotipo HO a 30°C. Estos valores medios son muy parecidos a los que se obtuvieron en los genotipos HO polinizados con los LO, así como en los cruces recíprocos LOxHO. Aunque los genotipos LOxHO y HOxLO tuvieron contenidos de oléico similares a 10°C, los LOxHO tuvieron valores ligeramente mayores a 20°C y a 30°C, dando la apariencia de un efecto materno inverso. Sin embargo, es posible que la maduración forzada de los genotipos HO, en particular a 30°C, puede ser el motivo del menor contenido de oléico de las semillas HOxLO que el de las semillas LOxHO. Por otra parte, la línea convencional I101A, tiene generalmente entre un 4% y un 5% más de contenido graso que el genotipo de alto oléico OLER.

A 10°C Las plantas F1 autofecundadas produjeron una semilla con un contenido de oléico similar al de las semillas LOxHO y HOxLO. A 20°C el contenido de oléico de las plantas F1 fué intermedio entre el valor de los genotipos HO y el de LOxHO, indicando que la segregación a 10°C y 20°C en las plantas F1 es distinta respecto a las clases de alto, intermedio y bajo-oléico establecidas para los genotipos HO, LOxHO y LO respectivamente. Entre 10°C y 20°C los genotipos F1 fueron menos estables que los genotipos LO. A 30°C las plantas F1 tuvieron menos contenido de oléico que a 20°C. Como en el caso de los genotipos HO, la maduración prematura de las plantas F1, puede ser la causante de esta bajada.

A 10°C, el contenido de oléico de los retrocruces F1xLO fué intermedio entre el de LO y el de F1. Sin embargo a 20°C y 30°C, tuvieron contenidos de oléico similares a los de los genotipos LO. De nuevo la maduración prematura de

Las plantas F1 puede haber distorsionado los resultados aunque no se descarta el que pueda deberse a la utilización del polen de I106 en lugar de I101.

La tabla 2 muestra los contenidos de oléico obtenidos de semillas F2, de plantas F1 autofecundadas a tres temperaturas distintas.

La inspección de los datos a 10°C muestra tres agrupaciones de semillas: una de bajo contenido de oléico (10-20%), otra de alto contenido (entre 75-90%) y una gran clase intermedia con valores muy dispares, desde 20% a 75% de oléico. Estas agrupaciones coinciden con los valores que cabría esperar según la segregación 1:2:1 para un gen semidominante O1 reponsable del alto contenido de oléico, como postuló Fick (1.984). Esta misma segregación puede observarse a 30°C, si bien las clases baja, media y alta tienen distinto contenido de olico que a 10°C, siendo poco clara la división entre las clases baja y media.

A 20°C, la situación es particularmente interesante. La agrupación de semillas F2 indica una segregación 3:1 (Alto-Bajo), como la que cabría esperar en la segregación de un gen dominante que regulase el alto contenido de oléico, como postuló Urie (1.985). Si se clasifican los contenidos de oléico de las semillas F2 a 20°C en clases, aumentando de 1% en 1% a partir de 85% (Tabla 3), se aprecian dos subclases, entre 85 y 91%. Una de 87 a 89% y otra de 89 a 91%. Separando estas dos clases, la segregación es 1:2:1. Aparentemente el alto contenido de oléico está condicionado por un gen cuya acción es semidominante pero que puede parecer dominante según la temperatura a la que se cultiven las plantas. El diferente comportamiento del gen O1 a distintas temperaturas podría explicar las distintas segregaciones obtenidas por Miller et al., (1.987) que obtuvieron una baja proporción relativa de semillas del tipo alto en plantas F1, y del tipo intermedio en el retrocruzamiento F1xL0, ya que estos estudios se realizaron en ambientes con temperaturas variables.

La tabla 3 confirma la presencia de un sólo gen como responsable del alto contenido de oléico en los genotipos mutantes derivados de Pervenets ya que las segregaciones en los retrocruces F1xL0 fueron simple 1:1 (bajo-intermedio). Sin embargo hay que destacar que mientras la dispersión de valores fue muy pequeña para los genotipos bajos, esta fue muy amplia para los genotipos intermedios a las tres temperaturas. Los porcentajes de oléico que separan las clases baja e intermedia fueron distintos para plantas F1 autofecundadas y en los retrocruces F1xL0. No es fácil explicar este fenómeno, y la posibilidad de que hay uno o más genes modificadores del contenido de oléico segregando en el genotipo L0, utilizado en la polinización, no se puede descartar.

Putt, (1.969) demostró que existe variabilidad genética para el contenido de ácido oléico en los genotipos convencionales. Una posible causa en la diferencia de resultados obtenidos por diversos autores podría ser que las líneas convencionales utilizadas tengan distintos genes modificadores de la acción del alelo O1. Mientras que Fick (1.984) y Miller, et al (1.987) utilizaron la línea HA 89, Urie (1.985) utilizó la línea P21 y en este estudio se han utilizado las líneas privadas de Koipesol, S.A. denominadas I101 y I106. También es posible que en el desarrollo de líneas a partir de la variedad Pervenets, por distintos autores se hayan fijado diversos genes modificadores, ya que la variedad Pervenets es muy heterogénea en cuanto a su contenido de oléico.

Conclusiones:

- I) Los estudios genéticos de herencia del contenido de ácidos grasos en el girasol deben hacerse a temperaturas constantes durante el periodo desde floración a maduración.
- II) El alto contenido de oléico observado en líneas derivadas de Pervenets está controlado por un gen simple parcialmente dominante, designado O1, que puede parecer dominante según la temperatura a que se cultiven las plantas.
- III) El contenido de oléico de la semilla depende del genotipo del embrión y no del genotipo de la planta madre, no pudiéndose confirmar herencia materna. Sin embargo, la influencia materna observada en este estudio y otros anteriormente citados, podría deberse a la distinta proporción de grasa estructural y grasa de reserva en las semillas de distintos genotipos.
- IV) La presencia de genes modificadores del contenido de oléico en los genotipos convencionales, pueden alterar las segregaciones genéticas y en particular los valores que dividen las clases. Sin embargo, en este estudio no se ha podido confirmar la existencia del gen modificador M1 (Miller *et al.*, 1.987), pero podría deberse a que el genotipo LO utilizado en este estudio sea mlml.
- V) El efecto de la temperatura sobre plantas autofecundadas de los genotipos LO, HO y F1 fué distinto. Mientras que los genotipos HO fueron relativamente estables (entre 10°C y 20°C) los genotipos LO y F1 fueron muy inestables, en particular los F1.
- VI) La contaminación de genotipos LO con polen de genotipos HO, aumenta considerablemente su contenido de oléico, mientras que la contaminación de genotipos HO y F1 con polen de genotipos LO reduce considerablemente su contenido de oléico. Sin embargo el efecto de estas polinizaciones puede ser distinto a distintas temperaturas.
- VII) La producción de girasol con un contenido de oléico superior al 80% con genotipos HO, es probable que no precise del aislamiento de genotipos LO, en lugares cálidos, con una temperatura media durante la formación de semillas cercano a 20°C. Sin embargo, el aislamiento puede ser esencial en lugares frescos con una temperatura media durante el llenado inferior a 20°C.
- VIII) La producción de girasol convencional (LO) con un contenido de ácido linoléico superior al 70% debe hacerse en lugares con una temperatura relativamente baja, inferior a 20°C, durante la formación de semillas. De extenderse el cultivo de genotipos HO, en estos lugares es muy probable que para producir girasol con alto contenido en linoléico (bajo en oléico), sea preciso el aislamiento de los genotipos LO, de la influencia del polen de los genotipos HO.

Agradecimientos:

El autor quiere agradecer al Sr. Linares, Jefe del Laboratorio de Koipe, S.A., por realizar los análisis de ácidos grasos.

TABLA 1: PORCENTAJE DE OLEICO, MINIMO (m), MAXIMO (M) Y MEDIO (x). OBSERVADO EN VARIOS GENOTIPOS DE GIRASOL CULTIVADOS A TRES TEMPERATURAS CONSTANTES.

GENOTIPO	TEMPERATURAS			
	10° C	20° C	30° C	
LO *	m	15,7%	32,4%	47,3%
	M	23,4%	58,9%	74,6%
	x	20,2% (5)	44,4% (12)	57,6% (6)
HO *	m	81,0%	85,3%	44,0%
	M	86,0%	89,4%	71,1%
	x	83,5% (2)	87,2% (4)	60,6% (3)
LO x HO	m	50,1%	66,3%	70,1%
	M	59,4%	81,0%	86,6%
	x	55,1% (3)	75,0% (3)	80,5% (3)
HO x LO	m	50,7%	51,7%	72,5%
	M	57,4%	67,2%	75,6%
	x	54,2% (3)	62,3% (5)	74,1% (3)
F1 *	m	45,9%	78,2%	69,3%
	M	59,8%	82,8%	73,3%
	x	53,4% (5)	80,4% (5)	71,4% (3)
F1 x LO	m	22,6%	38,5%	58,2%
	M	43,4%	46,0%	61,6%
	x	31,9% (5)	41,7% (5)	60,3% (3)

* plantas autofecundadas
() número de plantas estudiadas

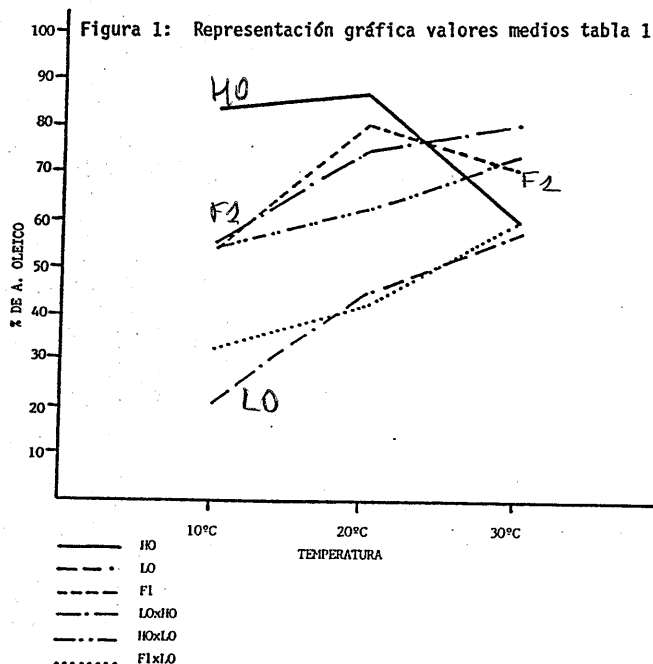


TABLA 2 : SEGREGACION EN LAS SEMILLAS F2 DE PLANTAS F1 (HOxLO) AUTOFECONDADAS A TRES TEMPERATURAS CONSTANTES.

% OLEICO	10° C			20° C			30° C		
	A	B	ESPER. 1:2:1	A	B	ESPER. 3:1	A	B	ESPER. 1:2:1
10-15%	12								
15-20%	6	...18	17,5						
20-25%	0								
25-30%	1								
30-35%	2								
35-40%	3								
40-45%	3			3					
45-50%	1			1					
50-55%	2			14			2		
55-60%	0			15			4		
60-65%	3			7			4	...10	9,5
65-70%	7			6			5		
70-75%	11	...33	35,0	1			9		
75-80%	3			2	...49	44,25	3	...17	19,0
80-85%	12			1			10		
85-90%	4			119			1		
90% +	0	...19	17,5	8	...128	132,75	0	...11	9,5
TOTAL TEST X2	(5)70		NS	(3)177		NS	(3)38		NS

() número de plantas utilizadas.
 A Datos observados
 B Datos agrupados

TABLA 3 : SEGREGACION EN LAS SEMILLAS F2 DE PLANTAS F1 (HOxLO) AUTOFECONDADAS A 20° C.

% OLEICO	20° C		
	A	B	ESPER. 1:2:1
15-80%	49	...49	44,25
85-86%	1		
86-87%	-		
87-88%	59		
88-89%	25	...85	88,50
89-90%	36		
90-91%	7	...43	44,25
TOTAL TEST X2	177		NS

A Datos observados
 B Datos agrupados

TABLA 4 : SEGREGACION EN LAS SEMILLAS DEL RETROCRUCE (HOxLO)xLO A TRES TEMPERATURAS CONSTANTES

% OLEICO	10° C			20° C			30° C		
	A	B	ESPER. 1:1	A	B	ESPER. 1:1	A	B	ESPER. 1:1
10-15%	31								
15-20%	7	...38	36,5						
20-25%	4			5					
25-30%	2			12					
30-35%	1			35					
35-40%	6			37					
40-45%	3			8	...97	90,5			
45-50%	5			52					
50-55%	1			15			10		
55-60%	3			5			10	...20	20,0
60-65%	2			2			9		
65-70%	3			1			8		
70-75%	3			1			2		
75-80%	2			2			-		
80-85%	-			3			1		
85-90%	-			3			-		
90% +	-	...35	36,5	-	...84	90,5	-	...20	20,0
TOTAL TEST X2	(5)73		NS	(5)181		NS	(3)40		NS

() número de plantas utilizadas
 A: Datos observados
 B: Datos agrupados

Referencias:

- 1) Fernández-Martínez J., A. Jiménez-Ramírez, J. Domínguez-Giménez y M. Alcántara. 1.986. Influencia de la temperatura en el contenido de ácido oléico y linoléico del aceite de tres genotipos de girasol: *Grasas y Aceites* 37. Fascículo 6: 326-331.
- 2) Fernández-Martínez J., A. Jiménez y J. Domínguez. (com.per.) Genetic of the high oleic acid content in cultivated sunflower.
- 3) Fick G.N. 1.984. Inheritance of high oleic acid in the seed oil of sunflower. p. 9 In Proc. 6th. Sunflower Forum, Bismarck, ND. 1 Feb. National Sunflower Association, Bismarck, ND, USA.
- 4) Fuller M., J. Diamond y T.H. Applewhite. 1.967: High oleic safflower oil stability and chemical modification. *Journal of the American oil Chemists Society* 44: 264-267.
- 5) Goyne P.J., B.W. Simpson, D.R. Woodruff, y J.D. Churchett. 1.979. Environmental influence on sunflower achene growth, oil content and oil quality. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 19: 82-88.
- 6) Grindley D.N. 1.952. Sunflower seed oil: The influence of temperature on the composition of the fatty acids: *J. Sci. Food Agric.* 3: 82-86.
- 7) Grundy S.M. 1.986. Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for lowering plasma cholesterol. *New England Journal of Medicine.* 314: 745-748.
- 8) Harris H.C., J.R. McWilliam y W.K. Mason. 1.978. Influence of temperature on oil content and composition of sunflower seed. *Aust. J. Agric. Res.*, 29: 1.203-1.212.
- 9) Kharchenko L.N. 1.979. On Genotypic and Phenotypic Mechanisms of fatty acid biosynthesis regulation in sunflower seed. *Fiziol. Rast.* 26: 1.226-1.232.
- 10) Miller J.F., D.C. Zimmerman y B.A. Vick. 1.987. Genetic Control of high oleic acid content in sunflower oil. *Crop Science*: 27 923-926.
- 11) Putt E.D. 1.969. Variation in composition of sunflower oil from composite samples and single seeds of varieties and inbred lines. *Journal of the American oil Chemists Society* 46: 126-129.
- 12) Robertson J.A., G.W. Chapman, Jr y R.L. Wilsor, Jr. 1.978. Relation of Days after flowering to chemical composition and physiological maturity of sunflower seed. *Journal of the American oil Chemists Society* 55: 266-269.
- 13) Seiler G.J. 1.983. Effect of genotype, flowering date and environment on oil content and oil quality of wild sunflower seed. *Crop Science* 23: 1.063-1.068.
- 14) Soldatov K.I. 1.976. Chemical mutagenesis in sunflower breeding In Proc. 7th. International Sunflower conference., Krasnodar USSR, 27 June-3 July. P. 352-357. International Sunflower Association, Vlaardingen, the Netherlands.
- 15) Stump P.K. 1.970. Fatty acid metabolism in plants. *Lipid metabolism*. Academic Press 79-106.
- 16) Urie A.L. 1.985: Inheritance of high oleic acid in sunflower. *Crop Science*:25: 986-989.