

Trabajo Final de Intensificación

Efecto del ambiente materno sobre la germinación en biotipos de *Brassica rapa* L.



Anaía Inés Cuppi

Tutor

Dr. Ing. Agr. Claudio E. Pandolfo

Consejeros

Dr. Ing. Agr. Alejandro Presotto

Dra. Ing. Agr. María Soledad Ureta

Asesora Externa

Biol. Denise Simian



Departamento de Agronomía - Universidad Nacional del Sur

Septiembre 2023

CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	2
ÍNDICE DE FIGURAS.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	4
RESUMEN.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
HIPÓTESIS	10
OBJETIVO	10
MATERIALES Y MÉTODOS	11
Material vegetal.....	11
Experimento: ensayo de fechas de siembra contrastantes	14
RESULTADOS.....	17
Condiciones climáticas	17
Evaluación de características de la planta madre.....	18
Prueba de tinción con tetrazolio	22
Evaluación de germinación.....	22
DISCUSIÓN.....	28
CONCLUSIONES.....	31
BIBLIOGRAFÍA	32
ANEXO 1	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Biotipos de *Brassica rapa* L. y *Brassica napus* L.

Tabla 2. Días a floración (días; media \pm desvío estándar), altura de la planta al ras del suelo (cm; media \pm desvío estándar), biomasa aérea (g; media \pm desvío estándar) y rendimiento o peso de las semillas (g; media \pm desvío estándar) evaluados por fecha de siembra entre los biotipos de *Brassica rapa* L. y *Brassica napus* L. durante el ensayo realizado en el campo experimental del Departamento de Agronomía. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos para cada parámetro reproductivo ($p < 0,05$).

Tabla 4. Análisis de la varianza de todas las variables de germinación. Variable dependiente: germinación. Variables de clasificación: fecha de siembra (siembra), temperatura y biotipo. Interacciones entre variables de clasificación. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos para cada parámetro reproductivo ($p < 0,05$).

Tabla 5. Análisis de la varianza de fecha de siembra, biotipo y su interacción. Variable dependiente: germinación. Variable de clasificación: fecha de siembra (siembra) y biotipo. Particiones: temperatura (10°C, 20°C y 30°C). Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos para cada parámetro reproductivo ($p < 0,05$).

Tabla 6. Análisis de la varianza de todas las fechas de siembra. Variable dependiente: germinación. Variable de clasificación: fecha de siembra (siembra). Particiones: temperatura (10°C, 20°C y 30°C). Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos para cada parámetro reproductivo ($p < 0,05$).

Tabla 7. Análisis de la varianza de la primera fecha de siembra. Variable dependiente: germinación. Variable de clasificación: biotipo. Particiones: temperatura (10°C, 20°C y 30°C). Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos para cada parámetro reproductivo ($p < 0,05$).

Tabla 8. Análisis de la varianza de la segunda fecha de siembra. Variable dependiente: germinación. Variable de clasificación: biotipo. Particiones: temperatura (10°C, 20°C y 30°C). Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos para cada parámetro reproductivo ($p < 0,05$).

Tabla 9. Análisis de la varianza de la tercera fecha de siembra. Variable dependiente: germinación. Variable de clasificación: biotipo. Particiones: temperatura (10°C, 20°C y 30°C). Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos para cada parámetro reproductivo ($p < 0,05$).

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Relaciones entre las especies cultivadas del género *Brassica*, conocido como el Triángulo de U (U, 1935). Los genomas diploides de *B. rapa*, *B. nigra* y *B. oleracea* fueron designados como A, B y C respectivamente.

Figura 2. Vista de una planta de *Brassica rapa* L. (nabo).

Figura 3. Mapa del centro de la República Argentina con la ubicación de las poblaciones silvestres analizadas (📍). Realizado con Google Earth.

Figura 4. Biotipos de nabo en condiciones controladas (izquierda) y en el campo experimental (derecha).

Figura 5. Plantas de nabo con riego por goteo.

Figura 6. Evaluación de altura de la planta al momento de la cosecha (izquierda) y de biomasa aérea (derecha).

Figura 7. Biotipos en cámara de germinación (izquierda) y semillas germinadas (derecha).

Figura 8. Gráfico de la temperatura media mensual (°C) para Bahía Blanca durante el año 2022. Datos obtenidos de Tutiempo.net.

Figura 9. Gráfico de la precipitación total anual (mm) para Bahía Blanca durante el año 2022. Datos obtenidos de Tutiempo.net.

Figura 10. Días a floración (izquierda) (1a, 2b, 3c) y altura de planta (derecha) (1,2a, 3b) de las distintas fechas de siembra (1, 2 y 3).

Figura 11. Biomasa por planta (izquierda) (2a, 1b, 3c) y Rendimiento por planta (derecha) (2a, 1,3b) de las distintas fechas de siembra (1, 2 y 3).

Figura 12. Proporción de germinación de las semillas obtenidas en las distintas fechas de siembra (S1, S2 y S3) incubadas en tres temperaturas (10°C, 20°C y 30°C) bajo un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Los puntos representan una réplica de cada biotipo.

Figura 13. Proporción de germinación de los biotipos incubados a 10°C en la primera, segunda y tercera fecha de siembra bajo un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos en cada fecha de siembra ($p < 0,05$).

Figura 14. Proporción de germinación de los biotipos incubados a 20°C en la primera, segunda y tercera fecha de siembra bajo un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos en cada fecha de siembra ($p < 0,05$).

Figura 15. Proporción de germinación de los biotipos incubados a 30°C en la primera, segunda y tercera fecha de siembra bajo un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos en cada fecha de siembra ($p < 0,05$).

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, que siempre está presente con palabras de aliento, por ser mi sostén y amparo y, por día a día, enseñarme a ser mejor persona.

Especialmente, a mi mamá, a mi papá y a mi hermana, que son mi guía en esta travesía, por impulsarme siempre a seguir adelante, y por acompañarme en los buenos y malos momentos con un abrazo sincero y contenedor.

A mis amigas de siempre y a mis amigas y amigos colegas, por brindarme su apoyo incondicional. Deseo que sigamos compartiendo experiencias maravillosas, charlas eternas, risas cómplices y escandalosas, mates amargos y duraderos y fantásticas anécdotas inolvidables.

A mi tutor, consejeros y asesora externa, por permitirme participar en este trabajo y terminar mi carrera al lado de grandes personas.

A la Universidad Nacional del Sur y, en particular, al Departamento de Agronomía, por el excelente ámbito de estudio proporcionado y por la extraordinaria educación que recibí.

Por último, a todos aquellos que guiaron, que participaron y que compartieron, desde mi infancia hasta ahora, toda mi formación académica, por ayudarme a crecer como profesional y como persona.

¡Muchas gracias a todos!

RESUMEN

En Argentina, *Brassica rapa* L. es reconocida como maleza de cultivos desde la década del 30. A partir de 2012, se comenzaron a detectar poblaciones de *B. rapa* con resistencia transgénica a glifosato y a herbicidas inhibidores de la enzima ALS o AHAS. La presencia de poblaciones naturales de nabo con resistencia transgénica a glifosato y a herbicidas AHAS (resistencia múltiple a herbicidas de distinto modo de acción) conlleva un evidente impacto económico y ambiental, derivado de la necesidad de aumentar las aplicaciones de herbicidas para el control de estas poblaciones.

Brassica rapa L. es una especie anual o bianual que emerge en otoño e invierno, vegeta en invierno y florece tarde en primavera o en verano. Las semillas para germinar deben encontrarse en condiciones adecuadas de temperatura, humedad, luz y concentración de oxígeno. No obstante, en muchas especies, aun dándose estas condiciones, la germinación no tiene lugar, ello está motivado por un estado intrínseco de la semilla denominado dormición. Este mecanismo tiende a posponer o escalonar la germinación en el tiempo (dispersión en el tiempo), lo que a su vez facilita la dispersión en el espacio de las semillas. Por todo ello, es un fenómeno de un gran valor ecológico y adaptativo, ya que incrementa las posibilidades de supervivencia de las semillas de muchas especies vegetales.

La variación en el fenotipo de un individuo puede estar determinada no solo por el genotipo y el entorno de ese individuo, sino también por los efectos maternos. Los efectos maternos son la influencia causal del genotipo y fenotipo materno sobre el fenotipo de la descendencia. Cuando las condiciones ambientales experimentadas por las plantas madre influyen sobre el fenotipo de la progenie se llama “efecto ambiental materno”. Este actúa durante la fase de desarrollo y maduración de las semillas afectando, entre otras características, a la dormición de las semillas. En el caso de poblaciones o biotipos maleza de *B. rapa* L. (e.g. con resistencia a herbicidas), la información sobre el efecto del ambiente sobre su aptitud biológica y caracteres de la semilla es escasa y, sin embargo, sumamente valiosa debido al crecimiento que viene experimentando esta especie en los agro-ecosistemas de la región pampeana.

El objetivo del ensayo fue evaluar parámetros reproductivos de diversos biotipos de *Brassica rapa* L. (e.g. con y sin resistencia a herbicidas, diferentes sitios de recolección) y evaluar la germinación de semillas de *Brassica rapa* L. criadas en tres fechas de siembra contrastante. Para lo que se utilizaron 10 biotipos de *Brassica rapa* L. provenientes de distintos sitios. Entre estos hay biotipos resistentes y susceptibles a herbicidas (glifosato y AHAS) y con distintos requerimientos de vernalización. Además, se incorporó un control cultivado de *Brassica rapa* y otro de *Brassica napus*. El ensayo se realizó en tres fechas de siembra contrastantes: 20 de mayo, 15 de julio y 12 de octubre.

Los resultados fueron concluyentes, el momento en el que emergen los biotipos de *Brassica rapa* L. y *Brassica napus* L. determina el escenario térmico y lumínico (fotoperíodo, radiación) en el que crecen sus individuos, y esto afecta los parámetros reproductivos de las plantas madre e influye sobre los caracteres de sus semillas. Esta afirmación se vio respaldada por los resultados que arrojaron los biotipos LSA, ERI, BAL 19 y, en menor medida, TSA.

INTRODUCCIÓN

La agricultura (del latín *ager* = campo + *cultura* = cultivar) es el arte o ciencia de cultivar el suelo, incluyendo la cosecha de cultivos y la cría y manejo de ganado. Es una actividad de gran importancia estratégica y base fundamental para el desarrollo autosuficiente y la riqueza de las naciones. La agricultura se suele dividir en sectores, entre ellos, el sector agrícola que administra los recursos disponibles en un ambiente particular con el propósito de cultivar diferentes especies vegetales, como cereales, frutas, hortalizas, forrajes (Fernández, 2014).

Una de las principales problemáticas que afectan a la actividad agrícola es la presencia de malezas antes y durante el ciclo del cultivo, es decir desde el barbecho hasta la cosecha. Se denomina maleza a una especie vegetal que compite por los recursos del suelo o aéreos con el cultivo, y/o afecta a la economía, el bienestar o la salud del ser humano (Fernández, 2014). Las malezas poseen variaciones morfo-fisiológicas que le confieren plasticidad en el crecimiento y en el desarrollo, en la partición de asimilados a estructuras aéreas y subterráneas y en las estrategias de dispersión espaciales y temporales. Esto les permite tener respuestas flexibles y la capacidad de adaptarse a las variaciones de los recursos, estableciéndose de manera exitosa y llegando a producir una importante cantidad de semillas (descendencia). Sin embargo, no existe un carácter biológico o ecológico que sea común en todas las malezas, solamente tienen la particularidad de interferir en los objetivos y requerimientos de las actividades humanas. Como esta es totalmente una característica antropocéntrica, tienen un rango de distribución muy amplio en el reino vegetal (Plantae) (Fernández, 2014).

Las crucíferas o brasicáceas (Brassicaceae) son una importante familia vegetal, que incluye 338 géneros y 3709 especies, distribuidas ampliamente en los más diversos climas alrededor del mundo (Al-Shehbaz et al, 2006). Posee un gran número de especies hortícolas, oleaginosas, forrajeras y también algunas que se comportan como malezas y que son una fuente importantísima de néctar para la producción apícola (Prina, 1995). Las especies pertenecientes a la familia de las brasicáceas presentan una arquitectura floral uniforme y altamente conservada en la mayoría de sus miembros, permitiendo distinguirla fácilmente de cualquier otra familia. Las flores presentan simetría bilateral, y cuentan en general con cuatro sépalos, cuatro pétalos, seis estambres tetradínamos y un ovario bicarpelar. Por el contrario, los frutos exhiben una enorme variabilidad interespecífica, siendo el carácter más importante usado en las clasificaciones taxonómicas clásicas. La estructura básica de los frutos consiste en una cápsula bivalvada, dividida longitudinalmente por un falso tabique en dos lóculos, generalmente dehiscentes. Sobre la base de la relación largo/ancho, los frutos son clasificados en silicuas y silículas, aunque esta división no tiene ninguna implicancia filogenética (Lysak y Koch, 2011).

Dentro de esta familia se encuentra el género *Brassica* donde seis especies destacan por su importancia económica. U. Nagaharu (1935), a partir del triángulo de U (Figura 1), propuso que las especies con el número de cromosomas más grande *B. juncea* (AABB, $2n = 36$), *B. napus* (AACC, $2n = 38$) y *B. carinata* (BBCC, $2n = 34$), eran anfidiplóides y que éstas derivaban de las especies diploides *B. nigra* (L.) Koch (BB, $2n = 16$), *B. rapa* (sin. *B. campestris*) (AA, $2n = 20$) y *B. oleracea* L. (CC, $2n = 18$). Es decir, la colza (*B. napus*) es un híbrido natural entre la col o repollo (*B. oleracea* L.) y el nabo

(*B. rapa* L.), originado probablemente en el Mediterráneo, donde convivían ambas especies (Quezada, 2012).

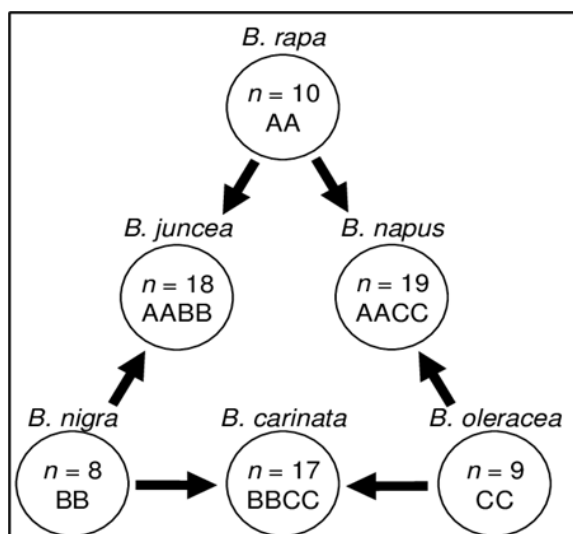


Figura 1. Relaciones entre las especies cultivadas del género *Brassica*, conocido como el Triángulo de U (U, 1935). Los genomas diploides de *B. rapa*, *B. nigra* y *B. oleracea* fueron designados como A, B y C respectivamente.

La colza (*B. napus* L.) es una de las especies oleaginosas de mayor relevancia mundial, que se destaca por su elevada participación en la producción mundial de aceites comestibles. Según estimaciones del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA), en 2022 se cosecharon cerca de 87 millones de toneladas de colza, sobre una superficie de 34 Mha sembradas en todo el mundo. El aceite de colza es el tercero en importancia mundial, luego del de palma y soja. El sostenido mejoramiento de la colza durante la década de 1990 llevó al desarrollo de variedades genéticamente modificadas, que incorporaron genes de resistencia a herbicidas. Los eventos transgénicos registrados incluyen resistencia a glifosato, glufosinato y bromoxinil. Las variedades resistentes a glifosato son actualmente cultivadas en Canadá, Estados Unidos, Australia, Japón y Chile (en este último caso, sólo para exportación de semilla). También existen variedades con resistencia a un grupo de herbicidas inhibidores de una enzima clave en la síntesis proteica (enzima AHAS), comercializadas bajo la marca registrada Clearfield o CL, y fueron obtenidas mediante mejoramiento convencional, es decir que no son transgénicas (Pandolfo et al., 2018).

A pesar de que no existen poblaciones silvestres de *B. napus*, suelen producirse escapes de plantas de los cultivos que forman poblaciones persistentes. Debido a la marcada dehiscencia (apertura espontánea) de los frutos, las semillas de colza se pierden antes o durante la cosecha y quedan en el suelo. También existe dispersión de propágulos hacia regiones distantes por el tráfico de maquinaria agrícola y pérdidas durante el transporte, esto último potenciado por el pequeño tamaño de la semilla. Estas poblaciones asilvestradas que persisten en el tiempo, sin la intervención del ser humano, se conocen como ferales (del latín fera, fiera o bestia salvaje) (Pandolfo et al., 2018).

En 2012, se detectaron poblaciones ferales de colza con resistencia a herbicidas en ambientes típicamente agrícolas de Argentina, actuando como malezas y moviéndose

varios kilómetros. La resistencia a herbicidas de estas poblaciones ferales les confirió una ventaja en sistemas agrícolas basados en el empleo intensivo de glifosato (Pandolfo et al., 2018). Este hecho provocó preocupación ya que la producción y comercialización de esta especie transgénica no ha sido autorizada en Argentina debido a la existencia de parientes silvestres naturalizados con los cuales puede haber flujo génico (SAGPyA, 1997; SENASA, 2007). No obstante, se introdujeron líneas no transgénicas con resistencia a herbicidas (INASE, 2019).

Una de las especies con la cual la colza puede hibridarse con relativa facilidad es *Brassica rapa* L. (nabo). Esta es una especie euroasiática de gran variabilidad morfológica, suele cultivarse como oleaginosa, es un recurso melífero importante; escapada de cultivo y naturalizada en algunos sitios, adquiere hábito ruderal y se comporta como maleza (Prina, 1995). Suele crecer en baldíos, potreros, rastros, a orillas de caminos, zanjas, terraplenes de vías férreas y en casi todo tipo de terreno trabajado y cultivos de corta rotación; también se encuentra en jardines y praderas cultivadas (Marzocca et al, 2009).

La planta de nabo es herbácea (Figura 2), de raíz cilíndrica engrosada o tuberosa. Los tallos son erectos de hasta 1,5 m de altura, ramificados y ligeramente cubiertos de pelos dispersos y duros en la base. La primera hoja es color verde, de forma oval con pelos dispersos en el haz y en el envés, el margen es crenado lobulado, con nervios centrales y laterales bien marcados y el pecíolo posee pelos ralos. Las siguientes hojas son alternas, de contorno oval, con lóbulos bien definidos, de formas diversas. Las inflorescencias son racimos corimbiformes (SINAVIMO, 2023). Las flores son amarillas, de 1,5 a 2 cm de diámetro. Los frutos son silicuas lineales, cilíndricas, divaricadas, glabras, de 5 a 6 cm de largo, pluriseminadas, dehiscentes por 2 valvas y terminadas en un rostro indehisciente, sin semillas, de casi la mitad de la longitud de las valvas (Marzocca et al, 2009). Las semillas son globosas, de 2 a 2,5 mm de diámetro, ligeramente angulosas y reticuladas o finamente alveoladas, de color castaño-rojizo a negruzco (SINAVIMO, 2023).



Figura 2. Vista de una planta de *Brassica rapa* L. (nabo).

En Argentina, *B. rapa* L. es reconocida como maleza de cultivos desde la década del 30 (Ibarra, 1937). A partir de 2012, se comenzaron a detectar poblaciones de *B. rapa* con resistencia transgénica a glifosato y a herbicidas inhibidores de la enzima ALS o AHAS (Pandolfo et al., 2018) que rápidamente se dispersaron y actualmente se encuentran en gran parte de las provincias de Buenos Aires, Córdoba y San Luis, sur de Santa Fe y oeste de Entre Ríos (<https://www.aapresid.org.ar/rem/#>). La presencia de poblaciones naturales de nabo con resistencia transgénica a glifosato y a herbicidas AHAS (resistencia múltiple a herbicidas de distinto modo de acción) involucraría al menos dos eventos de hibridación: uno con alguna de las plantas ferales transgénicas de colza halladas en la región y otro con algún cultivar con resistencia a herbicidas AHAS. Esto conlleva un evidente impacto económico y ambiental, derivado de la necesidad de aumentar las aplicaciones de herbicidas para el control de estas poblaciones. Además, se observó la dispersión de las plantas transgénicas por varios kilómetros desde el lugar de la primera detección, incluso hacia hábitats ruderales, con menos intervención humana y presión de herbicida. En estos entornos, la persistencia de los biotipos dependerá de la aptitud biológica (*fitness*) de estas plantas (Pandolfo et al., 2018).

Brassica rapa L. es una especie anual o bianual que emerge en otoño e invierno, vegeta en invierno y florece tarde en primavera o en verano (Arroyo et al, 2019). Luego, forman los frutos y produce la dispersión de semillas por dehiscencia de las silicuas que pueden dejar en el suelo un banco de semillas que germinará en forma escalonada. Las semillas para germinar deben encontrarse en unas condiciones ambientales de temperatura, humedad, luz y concentración de oxígeno adecuadas (Pérez García et al, 1999). No obstante, en muchas especies, aun dándose estas condiciones, la germinación no tiene lugar, ello está motivado por un estado intrínseco de la semilla denominado dormición (Baskin y Baskin, 2004). Este mecanismo tiende a posponer o escalonar la germinación en el tiempo (dispersión en el tiempo), lo que a su vez facilita la dispersión en el espacio de las semillas. Por todo ello, es un fenómeno de un gran valor ecológico y adaptativo, ya que incrementa las posibilidades de supervivencia de las semillas de muchas especies vegetales (Pérez García et al, 1999).

La variación en el fenotipo de un individuo puede estar determinada no solo por el genotipo y el entorno de ese individuo, sino también por los efectos maternos (Roach, 2009). Los efectos maternos son la influencia causal del genotipo y fenotipo materno sobre el fenotipo de la descendencia (Wolf, 2009). Cuando las condiciones ambientales experimentadas por las plantas madre influyen sobre el fenotipo de la progenie se llama "efecto ambiental materno". Este actúa durante la fase de desarrollo y maduración de las semillas afectando, entre otras características, a la dormición de las semillas (Longás, 2012). En el caso de poblaciones o biotipos maleza de *B. rapa* L. (e.g. con resistencia a herbicidas), la información sobre el efecto del ambiente sobre su aptitud biológica y caracteres de la semilla es escasa y, sin embargo, sumamente valiosa debido al crecimiento que vienen experimentando esta especie en los agro-ecosistemas de la región pampeana (AAPRESID, 2022).

HIPÓTESIS

El momento de emergencia de los biotipos de *Brassica rapa* L. determina el escenario térmico y lumínico (fotoperíodo, radiación) en el que crecen sus individuos, y esto afecta las características de las plantas madre e influye sobre los caracteres de sus semillas.

OBJETIVO

Objetivo 1: evaluar características de la planta madre de diversos biotipos de *Brassica rapa* L. (e.g. con y sin resistencia a herbicidas, diferentes sitios de recolección), sembrados en tres fechas de siembra contrastante.

Objetivo 2: evaluar la germinación de semillas de *Brassica rapa* L. criadas en tres fechas de siembra contrastante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se utilizaron 10 biotipos de *Brassica rapa* L. provenientes de diferentes regiones de Argentina. La colección estaba compuesta por biotipos resistentes y susceptibles a herbicidas (glifosato y AHAS) y con distintos requerimientos de vernalización. Además, se incorporó un control cultivado de *Brassica rapa* y otro de *Brassica napus* (Tabla 1 y Figura 3).

Tabla 1. Biotipos de *Brassica rapa* L. y *Brassica napus* L.

Población	Especie	Origen	Año	Estatus biológico	Observaciones	Coordenadas
IBA	<i>Brassica rapa</i>	Ibarra, Buenos Aires	2012	Silvestre	Camino rural, borde de un lote de maíz	36°20'34"S 61°14'34"W
BAL08	<i>Brassica rapa</i>	Balcarce, Buenos Aires	2008	Silvestre	Establecimiento "La Isaura". Linderas a lote colza Nexera.	37°35'25"S 58°31'59"W
ERI	<i>Brassica rapa</i>	Concepción, Entre Ríos	2011	Silvestre	-	32°37'23"S 58°25'21"W
HYO	<i>Brassica napus</i>	-	2015	Cultivado	Cultivar de colza Hyola	-
SUB	<i>Brassica rapa</i>	-	2018	Cultivado	Cultivar de <i>B. rapa</i> subsp. <i>trilocularis</i>	-
TSA	<i>Brassica rapa</i>	Tres Arroyos, Buenos Aires	2013	Silvestre	Borde de Ruta 228 km. 85	38°29'13"S 59°50'31"W
LSA	<i>Brassica rapa</i>	Azul, Buenos Aires	2016	Silvestre	Establecimiento "La Sarita", dentro de un lote de soja. Resistente a glifosato y AHAS.	37°07'49"S 60°00'25"W
BAL13	<i>Brassica rapa</i>	Balcarce, Buenos Aires	2013	Silvestre	Establecimiento "La Isaura", dentro de lote de soja. Resistente a glifosato.	37°35'25"S 58°31'59"W
SCB	<i>Brassica rapa</i>	Bariloche, Río Negro	2017	Silvestre	Borde del lago Nahuel Huapi, en Puerto Pañuelo.	41°3'13.4"S 71°31'52.8"W
BAL19	<i>Brassica rapa</i>	Balcarce, Buenos Aires	2019	Silvestre	Borde de lote. Misma ubicación que BAL 08.	37°35'25"S 58°31'59"W



Figura 3. Mapa del centro de la República Argentina con la ubicación de las poblaciones silvestres analizadas (📌). Realizado con Google Earth.

Experimento: ensayo de fechas de siembra contrastantes

Para evaluar el efecto del ambiente materno sobre la aptitud biológica y la dormición, se realizaron ensayos en tres fechas de siembra contrastantes: 20 de mayo, 15 de julio y 12 de octubre.

En cada fecha, los biotipos se sembraron en bandejas en condiciones controladas para luego ser trasplantadas al campo experimental (Figura 4). El diseño del experimento fue en bloques completamente aleatorizados con cuatro repeticiones donde cada bloque o repetición contó con 8 plantas de cada biotipo (Tabla 1). Para la primera fecha (mayo) se utilizaron todos los biotipos, para la segunda fecha (julio) se utilizaron 6 biotipos y para la tercera fecha (octubre) se utilizaron 8 biotipos.



Figura 4. Biotipos de nabo en condiciones controladas (izquierda) y en el campo experimental (derecha).

El ensayo se realizó en el campo experimental del Departamento de Agronomía, donde las plantas se dispusieron en hileras y se aplicó riego por goteo (Figura 5). Las parcelas fueron desmalezadas manualmente y se controlaron las plagas de pulgones y de hormigas, con jabón potásico y con insecticida, respectivamente. Se permitió que las plantas se polinicen libremente considerando que la vecina más cercana pertenecía a la misma población, esto hace probable que la mayoría de las semillas provengan de cruces entre plantas hermanas de la misma población. Este diseño permitió controlar el ambiente materno, aunque no el paterno, lo que, de encontrarse diferencias, refuerza el concepto de efecto materno ambiental (Dechaine et al, 2015).



Figura 5. Plantas de nabo con riego por goteo.

Para cada biotipo, se evaluó el tiempo a floración, altura de la planta al momento de la cosecha, biomasa aérea (Figura 6), peso de semillas por planta y germinación.



Figura 6. Evaluación de altura de la planta al momento de la cosecha (izquierda) y de biomasa aérea (derecha).

Cuando las plantas alcanzaron la madurez a cosecha (9% de humedad), se cosecharon y trillaron las silicuas. Los biotipos alcanzaron la madurez en diferentes momentos, por ello, las semillas obtenidas se dispusieron, durante una semana, dentro de sobres de papel madera en una campana de vidrio con gel de sílice para reducir la humedad. Luego de transcurrido ese tiempo, las semillas se colocaron dentro de bolsas selladas al vacío y se refrigeraron a -20°C con la intención de reducir al mínimo cualquier proceso metabólico de las mismas, esperando así la maduración de todos los biotipos. La germinación se evaluó sobre 4 réplicas de 25 semillas por biotipo, a tres temperaturas constantes: 10°C , 20°C y 30°C . Las pruebas se llevaron a cabo en cámaras de germinación durante 15 días, bajo un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (Figura 7). Se realizó la prueba de tinción de tetrazolio sobre las semillas no germinadas para distinguir entre semillas viables y muertas. En las semillas viables se observó un color rojizo indicando que tienen capacidad potencial de germinación. Mientras que, aquellas semillas que no adquirieron este color se consideran no viables o muertas.



Figura 7. Biotipos en cámara de germinación (izquierda) y semillas germinadas (derecha).

Finalmente, los datos fueron analizados estadísticamente con el programa INFOSTAT desarrollado por docentes e investigadores de la Universidad Nacional de Córdoba. Con este programa se realizó un análisis de ANOVA (análisis de la varianza) y comparación de medias mediante el test LSD Fisher ($p < 0,05$). Luego, se realizaron tablas y gráficos para una mejor interpretación y análisis de los resultados.

RESULTADOS

Condiciones climáticas

El ensayo fue realizado durante el 2022, en el campo experimental del Departamento de Agronomía, y este fue un año climáticamente típico para el partido de Bahía Blanca, siendo una zona de clima templado. Durante el año del ensayo, la temperatura media anual fue de 15,2°C (Figura 8), registrándose temperaturas máximas en el mes de enero de más de 40°C y mínimas en el mes de junio con valores por debajo de los 0°C (Tutiempo.net, 2023).

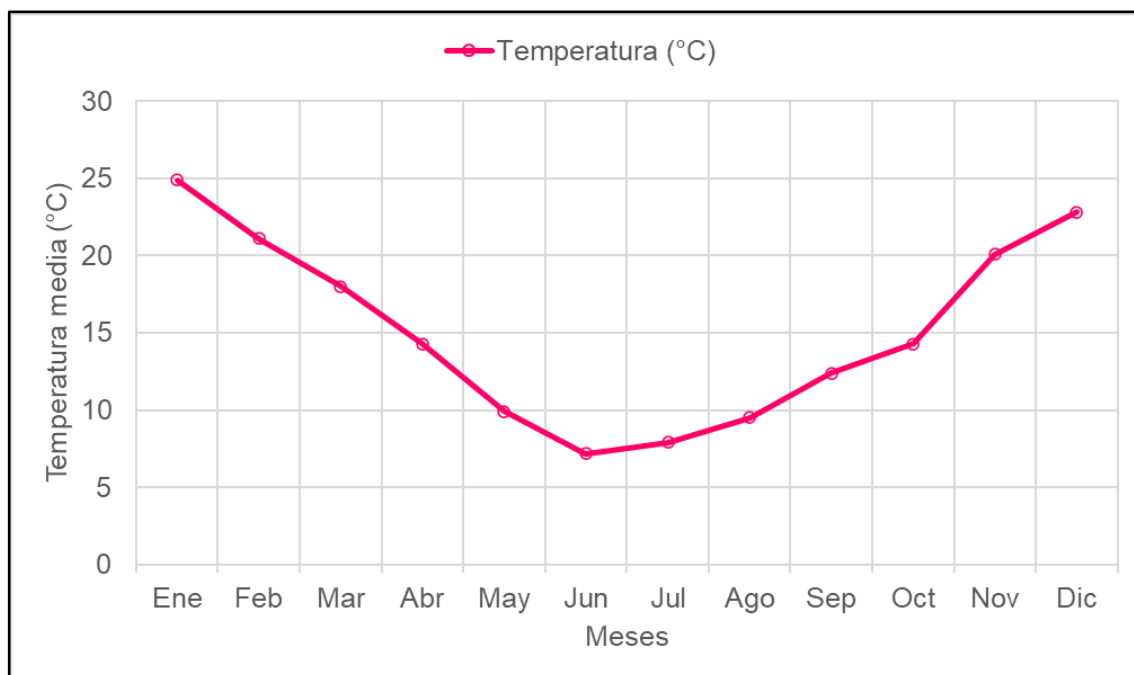


Figura 8. Gráfico de la temperatura media mensual (°C) para Bahía Blanca durante el año 2022. Datos obtenidos de Tutiempo.net.

Las precipitaciones otorgan a la zona un carácter sub-húmedo o de transición. Durante el 2022, la precipitación total anual fue de 643 mm (Figura 9). El mes de marzo fue el más lluvioso con un total de 163 mm. El mes de junio fue el que registró menores precipitaciones con un total de 2 mm. En la mayoría de meses que duró el ensayo, las precipitaciones fueron menores que la histórica de Bahía Blanca. Sin embargo, como las plantas eran regadas, no se vieron afectadas por estas condiciones climáticas (Tutiempo.net, 2023).

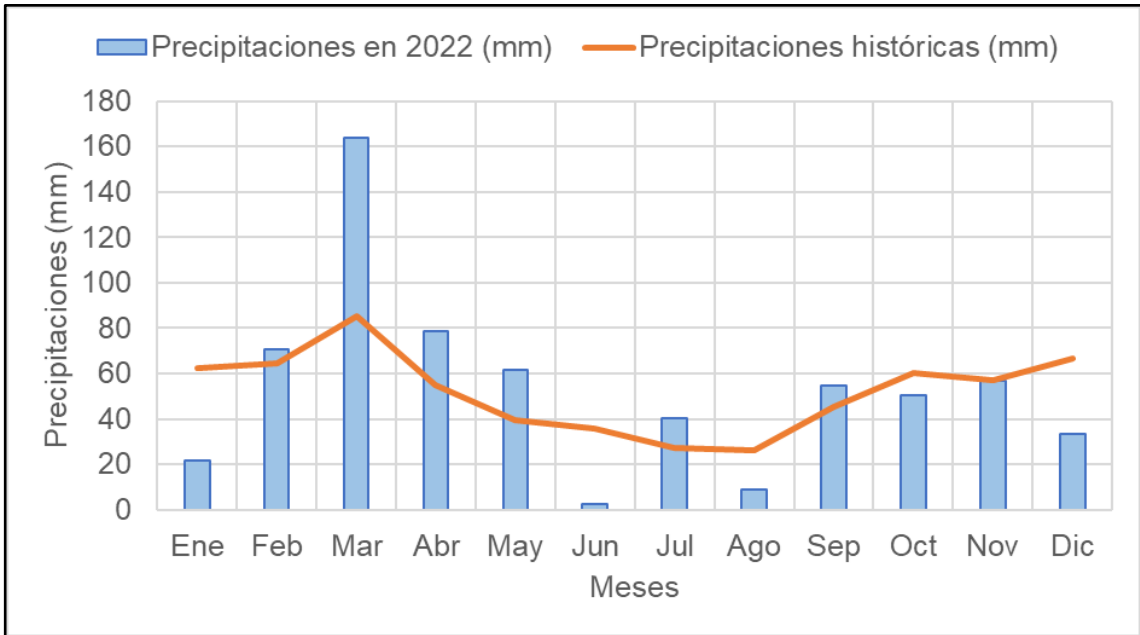


Figura 9. Gráfico de la precipitación total anual (mm) para Bahía Blanca durante el año 2022. Datos obtenidos de Tutiempo.net.

Los vientos predominantes de la zona son del cuadrante norte y noroeste. Durante el 2022, la velocidad media anual del viento fue de 19 km/h, siendo la velocidad máxima registrada de 105 km/h en el mes de agosto (Tutiempo.net, 2023).

Evaluación de características de la planta madre

Dentro de las características evaluadas en la planta madre, los días a floración y la biomasa aérea por planta de las tres fechas se diferenciaron significativamente entre sí. En altura de planta, la tercera fecha se diferenció de las otras dos. En cambio, en el rendimiento por planta, la segunda fecha se diferenció de las otras dos fechas de siembra (Figura 10 y 11).

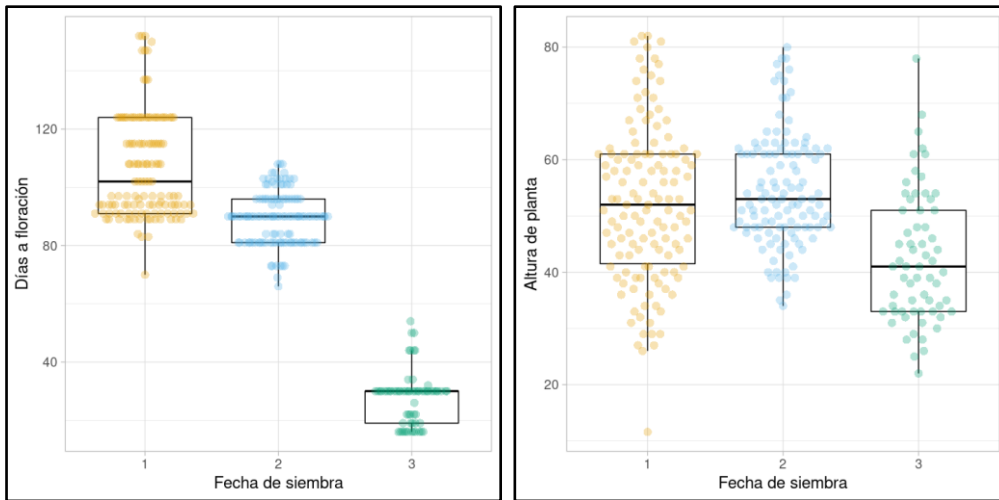


Figura 10. Días a floración (izquierda) (1a, 2b, 3c) y altura de planta (derecha) (1a, 2a, 3b) de las distintas fechas de siembra (1, 2 y 3).

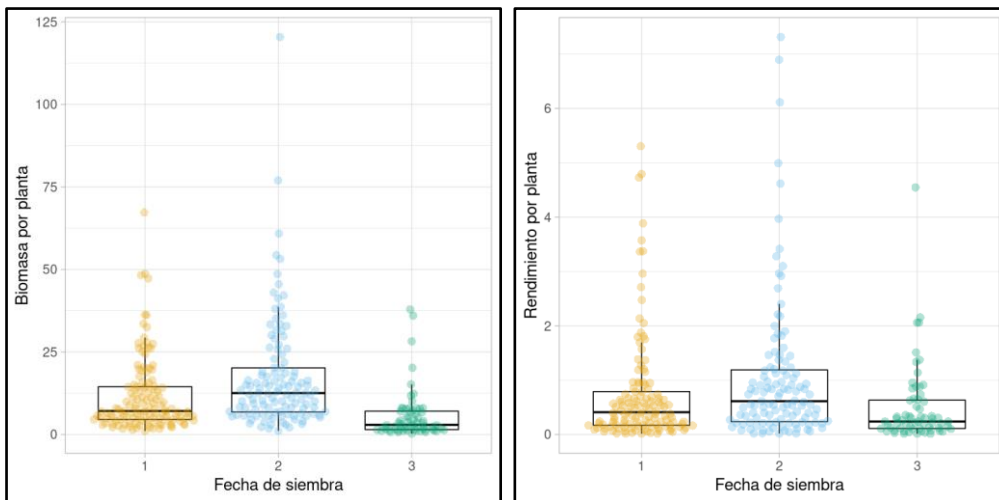


Figura 11. Biomasa por planta (izquierda) (2a, 1b, 3c) y Rendimiento por planta (derecha) (2a, 1b, 3b) de las distintas fechas de siembra (1, 2 y 3).

Los biotipos se comportaron de manera distinta durante cada fecha de siembra. Sumado a esto, las características evaluadas presentaron diferencias significativas en cada uno de los biotipos analizados (Tabla 2).

El biotipo SCB requirió, en todas las fechas, más días para llegar a florecer que el resto de los biotipos. Su altura fue similar en las tres fechas, pero su biomasa aérea y su rendimiento fue disminuyendo desde la primera hasta la última fecha de siembra. El biotipo ruderal TSA, en la primera fecha, fue el primero en florecer, tuvo una buena altura y biomasa aérea y un muy buen rendimiento. En cambio, en la tercera fecha, tardó más en florecer y su altura, biomasa y rendimiento fue escaso.

El biotipo ruderal BAL08, en las tres fechas, tardó más en florecer que la mayoría de biotipos. Además, su altura y biomasa fueron similares. Sin embargo, el rendimiento fue el doble en la última fecha comparando con las dos primeras. Los días para llegar a la floración del biotipo agrestal BAL13 fueron los más cortos en la segunda y tercera fecha comparando con el resto de los biotipos. En cambio, en la primera fecha estuvo dentro de los valores medios. Las plantas se destacaron por ser las más bajas del ensayo y por tener poca biomasa aérea. El rendimiento fue disminuyendo abruptamente de la primera a la última fecha de siembra. El biotipo ruderal BAL19 floreció más lentamente en la primera que en la tercera fecha, teniendo valores muy similares a BAL13. También fueron semejantes los valores de altura y biomasa aérea. Para el caso del rendimiento, este disminuyó, pero más levemente.

El biotipo agrestal LSA floreció más tempranamente que otros biotipos en la primera fecha con respecto a la tercera. La altura y la biomasa disminuyeron y el rendimiento fue igual en ambas fechas analizadas. Para llegar a florecer, el biotipo ruderal IBA necesitó menos días que la mayoría de los biotipos analizados. La altura y la biomasa aérea fue mayor en la segunda fecha que en la primera, obteniendo la última fecha los valores más bajos. El rendimiento fue disminuyendo de la primera a la tercera fecha. El biotipo ERI floreció más tempranamente que otros biotipos, relacionándose esto con que es un biotipo de una zona con de menor latitud (menos horas de luz) que el resto de los biotipos. La altura, la biomasa aérea y el rendimiento disminuyeron de la primera a la última fecha, sin embargo, se mantuvo entre los biotipos más bajos, con menor biomasa y con menor rendimiento.

El biotipo cultivado HYO tardó más en florecer que la mayoría de los biotipos en la primera y segunda fecha. Sin embargo, en la tercera fecha, fue uno de los primeros en florecer. La altura fue disminuyendo durante cada fecha, siendo de los biotipos más altos en la primera fecha y, de los más bajos, en la segunda y tercera. La biomasa aérea fue superior a la mayoría de los biotipos en las tres fechas. El rendimiento fue mayor en la segunda fecha, seguido por la primera y, por último, la tercera. El biotipo cultivado SUB, en la primera y segunda fecha, floreció más tardíamente que la mayoría de los biotipos. En la tercera fecha, disminuyó los días a floración, pero se mantuvo entre los biotipos con menores días requeridos para florecer. Con respecto a la altura, a la biomasa y al rendimiento, estos se mantuvieron similares durante las tres fechas, obteniendo, la segunda fecha, valores más altos en los tres parámetros.

En resumen, los biotipos SCB y BAL08 tardaron más en florecer que el resto de los biotipos en las tres fechas. Además, el biotipo de mayor altura fue BAL08 y el de menor altura fue BAL13. Con respecto a la biomasa aérea, en las dos primeras fechas HYO se diferenció significativamente del resto de biotipos y, en la tercera fecha, BAL08 se diferenció de todos los biotipos excepto de HYO y de SUB. Los rendimientos fueron variables, destacando los biotipos SUB, LSA, BAL13 y BAL19 con rendimientos mayoritariamente altos durante las tres fechas (Tabla 2).

Tabla 2. Días a floración (días; media \pm desvío estándar), altura de la planta al ras del suelo (cm; media \pm desvío estándar), biomasa aérea (g; media \pm desvío estándar) y rendimiento o peso de las semillas (g; media \pm desvío estándar) evaluados por fecha de siembra entre los biotipos de *Brassica rapa* L. y *Brassica napus* L. durante el ensayo realizado en el campo experimental del Departamento de Agronomía. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos para cada parámetro reproductivo ($p < 0,05$).

Biotipo	Primera fecha de siembra (mayo)				Segunda fecha de siembra (julio)				Tercera fecha de siembra (octubre)			
	Días a floración (días)	Altura de la planta (cm)	Biomasa aérea (g)	Peso de semillas (g)	Días a floración (días)	Altura de la planta (cm)	Biomasa aérea (g)	Peso de semillas (g)	Días a floración (días)	Altura de la planta (cm)	Biomasa aérea (g)	Peso de semillas (g)
IBA	99 \pm 2,65 ab	54,89 \pm 3,08 ab	11,95 \pm 2,39 a	1,08 \pm 0,23 ab	82 \pm 1,37 a	61,19 \pm 1,9 e	13,97 \pm 3,14 a	0,56 \pm 0,26 a	27 \pm 3,18 ab	40,25 \pm 5,01 ac	3,57 \pm 3,46 ab	0,38 \pm 0,38 ab
BAL08	121 \pm 2,65 d	61,89 \pm 3,08 b	12,65 \pm 2,39 a	0,31 \pm 0,23 a	91 \pm 1,62 b	62,13 \pm 2,25 de	12,24 \pm 3,71 a	0,35 \pm 0,31 a	35 \pm 2,12 c	55,33 \pm 3,34 d	14,13 \pm 2,31 c	0,70 \pm 0,25 ab
ERI	95 \pm 3,09 a	47,86 \pm 3,59 a	6,06 \pm 2,78 a	0,39 \pm 0,27 a	-	-	-	-	27 \pm 2,84 ab	35,80 \pm 4,48 a	1,45 \pm 3,09 a	0,10 \pm 0,34 a
HYO	113 \pm 5,79 cd	58,50 \pm 6,71 ab	34,77 \pm 5,2 b	0,51 \pm 0,5 ab	98 \pm 1,48 c	49,28 \pm 2,05 ab	37,96 \pm 3,39 b	1,50 \pm 0,29 bc	22 \pm 3,22 ab	43,00 \pm 4,88 ac	7,46 \pm 3,29 ac	0,09 \pm 0,36 a
SUB	119 \pm 3,21 d	51,92 \pm 3,72 ab	12,99 \pm 2,89 a	0,87 \pm 0,28 ab	91 \pm 1,18 b	53,61 \pm 1,65 bc	16,89 \pm 2,72 a	1,93 \pm 0,23 c	24 \pm 2,01 ab	47,00 \pm 3,17 bd	9,22 \pm 2,19 bc	0,95 \pm 0,24 b
TSA	93 \pm 3,09 a	54,86 \pm 3,59 ab	13,46 \pm 2,78 a	1,18 \pm 0,27 b	-	-	-	-	29 \pm 2,59 bc	38,00 \pm 4,09 ab	2,04 \pm 2,82 a	0,19 \pm 0,31 a
LSA	97 \pm 2,89 ab	49,69 \pm 3,36 a	9,03 \pm 2,6 a	0,53 \pm 0,25 ab	-	-	-	-	28 \pm 2,59 ab	36,17 \pm 4,09 a	3,15 \pm 2,82 ab	0,53 \pm 0,31 ab
BAL13	105 \pm 4,37 bc	43,00 \pm 5,07 a	6,93 \pm 3,93 a	0,95 \pm 0,37 ab	80 \pm 1,37 a	47,52 \pm 1,09 a	13,38 \pm 3,14 a	0,70 \pm 0,26 a	20 \pm 2,84 a	33,20 \pm 4,48 a	2,47 \pm 3,09 ab	0,40 \pm 0,34 ab
SCB	151 \pm 5,17 e	51,60 \pm 6 ab	14,22 \pm 4,65 a	1,18 \pm 0,44 ab	97 \pm 1,57 c	55,88 \pm 2,18 cd	9,80 \pm 3,59 a	0,79 \pm 0,3 ab	46 \pm 2,88 d	52,00 \pm 4,36 cd	2,21 \pm 2,94 ab	0,17 \pm 0,32 a
BAL19	104 \pm 2,65 bc	45,87 \pm 3,08 a	10,50 \pm 2,39 a	0,81 \pm 0,23 ab	-	-	-	-	23 \pm 2,01 ab	37,50 \pm 3,17 a	3,59 \pm 2,19 ab	0,70 \pm 0,24 ab

Prueba de tinción con tetrazolio

La prueba de tinción con cloruro 2,3,5-trifeniltetrazolio o test de tetrazolio es una técnica histológica para determinar la viabilidad de las semillas. En este ensayo, se utilizó para saber si las semillas que no germinaron eran viables o estaban muertas. Para ello, los tejidos metabólicamente activos, por medio de la respiración celular, se tiñen de un color rojizo indicando que las semillas tienen capacidad potencial de germinación. Aquellas semillas que no adquieren este color se consideran no viables o muertas.

En el ensayo, las semillas que no germinaron durante la evaluación a tres temperaturas constantes (10°C, 20°C y 30°C) fueron tratadas con tetrazolio. Esta prueba logró determinar que todas las semillas eran viables. Es decir, las semillas se tiñeron de un color rojizo, indicando capacidad potencial de germinación.

Evaluación de germinación

En el análisis comparativo se evaluó como fuente de variación la fecha de siembra (20 de mayo, 15 de julio y 12 de octubre), el biotipo (SCB, TSA, BAL08, BAL13, BAL19, LSA, IBA, ERI, HYO y SUB), la temperatura (10°C, 20°C y 30°C) y sus respectivas interacciones. La fecha de siembra representó el efecto del ambiente materno, el biotipo representó la genética de las poblaciones evaluadas, la temperatura evaluó el ambiente óptimo de germinación de las semillas y las interacciones mostraron la relación existente entre estas variables. Al realizar el ANOVA (análisis de la varianza) mediante el test LSD Fisher se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en cada variable evaluada en el ensayo (fecha de siembra, biotipo y temperatura). También, al analizar las interacciones entre las variables, se hallaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el biotipo y la fecha de siembra y entre el biotipo y la temperatura. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en las interacciones entre fecha de siembra y temperatura ($p > 0,10$) y entre fecha de siembra, biotipo y temperatura ($p > 0,10$) (Anexo 1).

Luego, se analizó la fecha de siembra, el biotipo y la interacción entre ellos y se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en cada variable (fecha de siembra y biotipo). No obstante, la interacción entre ellas no presentó diferencias significativas ($p < 0,10$) (Anexo 1).

En las distintas fechas analizadas no se encontró diferencias en la proporción de germinación de las semillas tratadas en las temperaturas a 10°C y a 30°C. Por el contrario, las semillas expuestas a 20°C durante la germinación presentaron diferencias entre las tres fechas de siembra (Figura 12). A su vez, a una misma temperatura de germinación, se observaron diferencias significativas entre los biotipos en las distintas fechas de siembra (Figura 13, 14 y 15).

La proporción de germinación de las semillas estuvo marcadamente influenciada por la temperatura de incubación. En este sentido, pudo observarse que, a 10°C, la germinación tomó valores cercanos a cero en las tres fechas de siembra. En el caso de

la germinación a 20°C, exhibió una mayor proporción de semillas germinadas provenientes de la segunda fecha de siembra. A 30°C, las diferencias en la proporción de germinación entre fechas de siembra no fueron marcadamente diferentes, no obstante, en la primera y en la tercera fecha de siembra, se observó un comportamiento de germinación variable, con biotipos tomando valores cercanos a cero, mientras que otros obtuvieron valores cercanos a 1. En tanto, para la segunda fecha de siembra, la mayoría de las germinaciones se concentraron y alcanzaron valores superiores a la proporción del 0,5 (Figura 12).

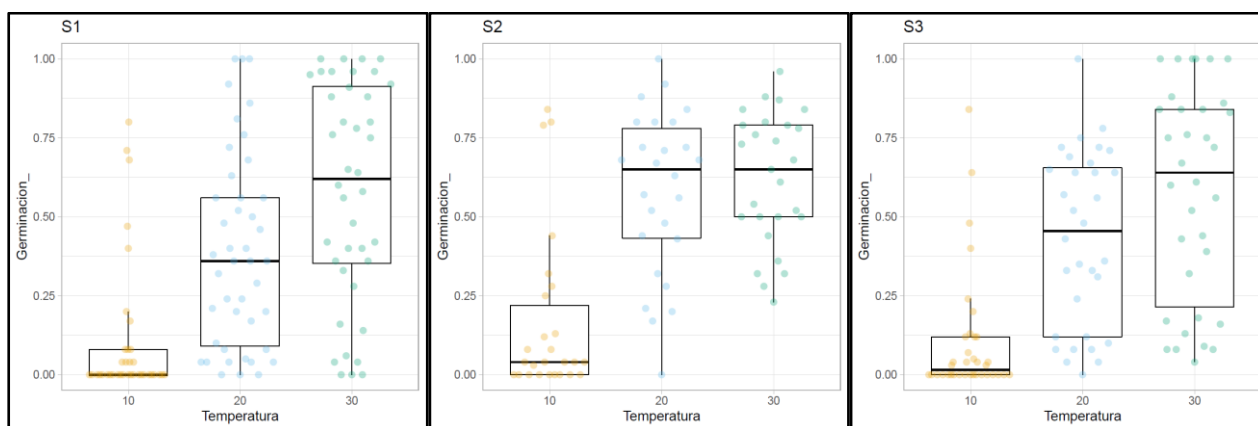


Figura 12. Proporción de germinación de las semillas obtenidas en las distintas fechas de siembra (S1, S2 y S3) incubadas en tres temperaturas (10°C, 20°C y 30°C) bajo un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Los puntos representan una réplica de cada biotipo.

A una temperatura de germinación de 10°C, en la primera fecha de siembra, el biotipo SCB se diferenció de todos los biotipos, excepto de ERI que únicamente se diferenció de HYO. A su vez, este último, se diferenció marcadamente del resto de biotipos con una proporción de germinación cercano al 0,7; mientras que el resto no superó el 0,2 y la mayoría no germinó (Figura 13).

En la segunda fecha de siembra, el biotipo HYO, con una proporción de germinación del 0,68 fue el único que se diferenció marcadamente del resto de biotipos analizados, que no superaron una proporción de germinación del 0,2 (Figura 13).

Durante la tercera fecha de siembra, el biotipo ERI superó levemente una proporción de germinación del 0,4 y se diferenció de todos los biotipos, excepto de BAL19, que presentó un 0,19. Sin embargo, BAL19 no mostró diferencias significativas con los otros biotipos analizados, que tuvieron una proporción de germinación menor al 0,1 (Figura 13).

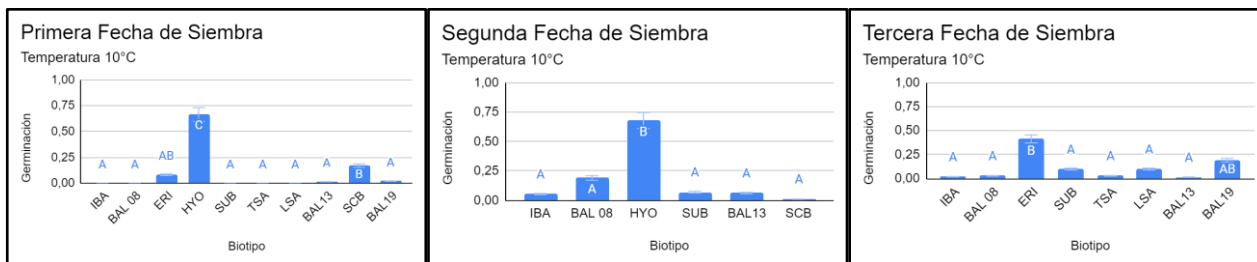


Figura 13. Proporción de germinación de los biotipos incubados a 10°C en la primera, segunda y tercera fecha de siembra bajo un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos en cada fecha de siembra ($p < 0,05$).

A 20°C, en la primera fecha de siembra, los biotipos SUB y LSA se diferenciaron de ERI, de BAL08, de SCB, de BAL13 y de HYO. De estos últimos cinco biotipos, IBA se diferenció de todos, excepto de ERI. Los biotipos TSA y BAL19 se diferenciaron de BAL13 y de HYO. El biotipo BAL13, con una proporción de germinación del 0,58 se diferenció de todos, excepto de aquellos que obtuvieron entre un 0,4 y un 0,5 como ERI, BAL08 y SCB. Por último, el biotipo HYO mostró diferencias significativas con el resto de los biotipos analizados, sobresaliendo con un 0,98 de germinación (Figura 14).

En la segunda fecha de siembra, el biotipo SUB presentó una proporción de germinación del 0,29 y se diferenció de BAL08, de SCB y de HYO, que germinaron un 0,66; 0,69 y 0,83; respectivamente. Sin embargo, ninguno de los mencionados se diferenció significativamente del resto de biotipos, BAL13 con 0,51 e IBA con 0,52 de germinación (Figura 14).

Durante la tercera fecha de siembra, el biotipo TSA, con 0,1 de germinación, se diferenció de BAL13, de LSA, de ERI y de BAL19, que tuvo más del 0,4. El biotipo IBA, con 0,24 de germinación, se diferenció de los biotipos ERI y BAL19, que presentaron 0,69 y 0,73, respectivamente. Además, se encontraron diferencias significativas entre los biotipos SUB y BAL 19 (Figura 14).

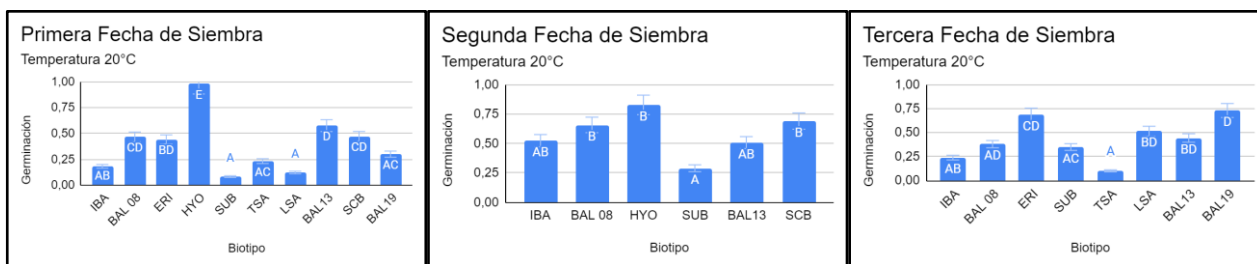


Figura 14. Proporción de germinación de los biotipos incubados a 20°C en la primera, segunda y tercera fecha de siembra bajo un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos en cada fecha de siembra ($p < 0,05$).

Cuando la temperatura de germinación fue de 30°C, en la primera fecha de siembra, el biotipo LSA, que apenas superó una proporción de germinación del 0,1, se diferenció de los biotipos IBA, de ERI, de SCB, de BAL08, de BAL13 y de HYO, que presentaron más de un 0,5. El biotipo TSA se diferenció de ERI, de SCB, de BAL08, de BAL13 y de HYO. Por su parte los biotipos SUB y BAL19 se diferenciaron de SCB, de BAL08, de BAL13 y de HYO. El biotipo IBA se diferenció de LSA, como se mencionó anteriormente, y también de los biotipos BAL13 y HYO, que presentaron una proporción de germinación del 0,9 y del 0,92; respectivamente (Figura 15).

En la segunda fecha de siembra, el biotipo IBA mostró diferencias significativas con los biotipos BAL08, HYO, BAL13 y SCB. Además, el biotipo SUB se diferenció de BAL13 y de SCB. Todos los biotipos presentaron más de una proporción de germinación del 0,45 (Figura 15).

Durante la tercera fecha de siembra, del biotipo TSA germinó un 0,35 y mostró diferencias significativas con los biotipos BAL08, BAL19 y ERI, que presentaron una proporción de germinación del 0,72, del 0,78 y del 0,86, respectivamente (Figura 15).

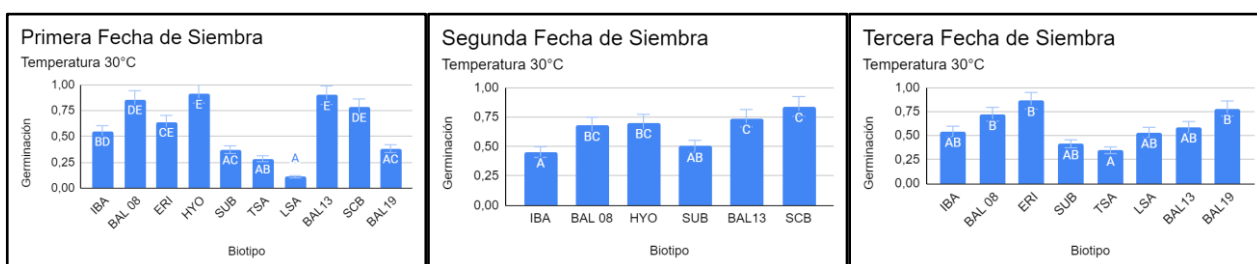


Figura 15. Proporción de germinación de los biotipos incubados a 30°C en la primera, segunda y tercera fecha de siembra bajo un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos en cada fecha de siembra ($p < 0,05$).

Las semillas de cada fecha de siembra expuestas a las tres temperaturas respondieron de manera distinta a la germinación. La proporción de semillas que germinaron varió dependiendo del biotipo, fecha de siembra y temperatura a la que se expusieron las semillas.

La germinación del biotipo SCB fue incrementando a medida que aumentó la temperatura. En la segunda fecha, la proporción de germinación fue mayor que en la primera a 20 y 30°C. En la primera fecha, el biotipo TSA a 10°C no germinó y en las otras temperaturas lo hizo muy escasamente. En la tercera fecha, la germinación fue escasa, pero, a diferencia de la primera fecha a 10°C germinó muy pobremente y a 30°C fue mayor que en la primera fecha.

Con respecto a la germinación de los biotipos BAL fue distinta para cada uno. El biotipo BAL08, a pesar de que a 30°C la germinación fue mayor en la primera y en la tercera fecha de siembra, a 10 y 20°C la germinación fue superior durante la segunda fecha. En el biotipo BAL13, la germinación a 10°C se mantuvo constante, a 20°C fue levemente menor y a 30°C disminuyó abruptamente durante cada fecha. Para el caso del biotipo BAL19, la germinación fue mayor en la tercera fecha y, además, en esta misma fue ampliamente superior que en el biotipo BAL13, pero lo contrario ocurrió en la primera fecha de siembra.

En el biotipo LSA, la germinación fue mayor en la tercera que en la primera fecha de siembra, mostrando así el efecto de la fecha de siembra sobre la dormición. La germinación del biotipo IBA a 10 y 20°C fue mayor en la segunda fecha que en la tercera quedando última la primera. En cambio, a 30°C la primera fecha fue levemente mayor que la tercera, siendo la segunda la de menor valor. La germinación a 20°C durante la segunda fecha de siembra demuestra una importante dormición en las otras dos fechas a esa misma temperatura.

El biotipo ERI presentó una germinación que fue ampliamente mayor en la tercera fecha que en la primera. Esto evidenció una gran proporción de semillas dormidas en la primera fecha de siembra demostrando el efecto de la fecha de siembra sobre la dormición.

Para el caso de los biotipos cultivados, la germinación que presentó el biotipo HYO fue alta en ambas fechas, superando ampliamente una proporción de germinación del 0,5 en todos los casos. A diferencia de este, la germinación del biotipo SUB fue en aumento durante las tres fechas, excepto a 30°C que la segunda fecha fue mayor que la tercera. Este biotipo presentó gran proporción de semillas dormidas durante las tres fechas de siembra.

En resumen, a una temperatura de 10°C, la germinación tomó valores cercanos a cero en las tres fechas de siembra, requiriendo mayores temperaturas para germinar, ya que a 20 y a 30°C no se observaron dificultades. En el caso de la germinación a 20°C, se observó el efecto de la fecha de siembra sobre la dormición en los biotipos LSA, ERI, BAL19 y, en menor medida, TSA. A 30°C, la germinación fue mayor en la mayoría de los biotipos, diluyendo en algunos casos el efecto materno observado a 20°C.

Con respecto a los biotipos, en SCB se observó que la proporción de germinación fue mayor en la segunda fecha de siembra que en la primera a 20 y 30°C. La germinación del biotipo IBA a 20°C durante la segunda fecha de siembra demuestra una importante dormición en las otras dos fechas a esa misma temperatura.

Para el caso de los biotipos BAL, la germinación fue distinta para cada uno durante las tres fechas de siembra. Las accesiones BAL13 y BAL19 se comportaron de manera similar, mientras que BAL08 se diferenció de ambos. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, en BAL19 se observó el efecto ambiental materno a diferencia de BAL13 donde no se apreció este fenómeno.

En los biotipos cultivados, la proporción de germinación fue distinta. En el biotipo HYO, la dormición no fue importante ya que superó ampliamente una proporción de germinación del 0,5 en las fechas analizadas. En cambio, el biotipo SUB presentó gran proporción de semillas dormidas durante las tres fechas de siembra.

DISCUSIÓN

Las condiciones ambientales, como el fotoperíodo, la radiación y la temperatura, por las que atraviesan las plantas madre influyen sobre el fenotipo de su descendencia. Kerdaffrec (2017) detalla en un estudio sobre *Arabidopsis thaliana* en que las semillas de las plantas madre expuestas a temperaturas frías (menos de 15°C), mostraron mayor dormición que las provenientes de plantas expuestas a temperaturas cálidas (mayor a 20°C). En el ensayo con *Brassica*, cada fecha de siembra presentó un ambiente distinto de luz y temperatura para el desarrollo de las plantas madre. Las diferencias en el ambiente durante las tres fechas nos permitieron observar el comportamiento de la planta y el efecto sobre la germinación de su descendencia, y así evaluar el posible progreso del banco de semillas en el suelo y el impacto en la producción agrícola.

Al analizar la proporción de germinación de las semillas, esta estuvo marcadamente influenciada por la temperatura de incubación. En este sentido, pudo observarse que, a 10°C, la germinación tomó valores cercanos a cero en las tres fechas de siembra. Esto indica que la especie *Brassica rapa* L. requiere mayores temperaturas para germinar, ya que a 20 y a 30°C no se observaron dificultades. Por otra parte, el biotipo cultivado de colza HYO (*Brassica napus* L.) tuvo altos niveles de germinación en las tres temperaturas de incubación, si bien se observó una leve disminución a 10°C.

En el caso de la germinación a 20°C, se observó efecto de la fecha de siembra, en algunos biotipos. A 30°C, la germinación fue mayor en la mayoría de los biotipos, diluyendo en algunos casos el efecto materno observado a 20°C. A su vez, en el ensayo se observó que los biotipos tuvieron un comportamiento distinto entre sí, variando la proporción en la que germinaban según la fecha de siembra. Es decir, en algunos se observó efecto del ambiente materno sobre la germinación, mientras que en otros no. Kerdaffrec (2017) explica en un estudio sobre *Arabidopsis thaliana* que estas diferencias se deben a la interacción existente entre el genotipo y el ambiente; que controla, entre otras características, la dormición en las semillas que se forman en esas plantas madre.

Los tres biotipos de la población BAL se comportaron de manera distinta. Las accesiones BAL13 y BAL19 fueron similares entre sí, mientras que BAL08 se diferenció de ambos. Con estas diferencias podemos evidenciar que, a pesar de pertenecer a poblaciones cercanas en el espacio físico, han sufrido un proceso de selección distinto. En el caso de BAL08 y BAL19, las accesiones corresponden a la misma población que se ubicaba en el borde de un lote agrícola (ruderal), aunque separadas por 11 años de diferencia. En ese período, la población sufrió una fuerte presión de selección debido a un evento de sequía extremo en el año 2009. Mientras que la accesión BAL13 se corresponde a plantas halladas a metros de las anteriores, pero dentro del lote agrícola. Además, presentó resistencia transgénica a glifosato. Estas diferencias en la historia evolutiva de las distintas accesiones de BAL podrían explicar las diferencias en la dormición entre ellas.

El biotipo ruderal IBA presentó un comportamiento particular. A 20°C se observó dormición en la primera y tercera fecha de siembra, mientras que en la segunda la germinación fue del 50%. Este efecto materno no se observó en la temperatura de incubación de 30°C.

En el biotipo de colza HYO la dormición no fue importante, lo que es un rasgo beneficioso al ser un biotipo cultivado. La selección realizada por el hombre buscó que las plantas cultivadas germinen todas al mismo tiempo. Las semillas del biotipo HYO, al no presentar dormición, permiten que el ciclo del cultivo sea parejo en todas las plantas. Esto facilita las distintas labores agrícolas, principalmente la cosecha que se puede realizar en una misma fecha. Sin embargo, el otro biotipo cultivado SUB mostró un comportamiento contrario, presentando una dormición de entre 50 y 100%. Al estar presente este rasgo en el biotipo se sospecha un error en la identificación del mismo.

El efecto materno sobre la dormición de las semillas se observó en algunos biotipos, aunque esta respuesta no fue uniforme entre ellos ni consistente entre temperaturas de incubación. Como explica Huang (2017) en un estudio sobre *Arabidopsis thaliana*, aquellas plantas que experimentaron temperaturas inferiores a 15°C dieron como resultado mayor proporción de semillas dormidas que a mayores temperaturas, demostrando que el efecto ambiental materno influye sobre características fenotípicas de la progenie, como lo es la dormición en las semillas. En este caso, esto tendría impacto sobre la estabilidad del banco de semillas del suelo cuando el ambiente de la planta madre se ve influenciado por temperaturas más cálidas que frías que perjudica la dormición de las semillas que se están formando.

Los resultados mostraron que el momento en el que emergen los biotipos de *Brassica rapa* L. y *Brassica napus* L. determina el escenario térmico y lumínico (fotoperíodo, radiación) en el que crecen sus individuos, y esto puede afectar los parámetros reproductivos de las plantas madre e influir sobre los caracteres de sus semillas. Esta afirmación, como se explicó anteriormente, se ve respaldada por los resultados que arrojaron los biotipos LSA, ERI, BAL19 y, en menor medida, TSA. Las plantas madre de estos, durante la primera fecha de siembra, florecieron en condiciones ambientales de menor temperatura que durante la tercera fecha de siembra. Esto influyó en el posterior desarrollo y maduración de las semillas y, por lo tanto, en las características fenotípicas, como lo es la dormición.

Cada biotipo proviene de una población distinta, con un proceso de selección particular, con un genotipo y fenotipo que expresa distintas respuestas al ambiente que lo rodea. Una clara respuesta a su entorno es la expresión de características fenotípicas en la progenie. Dentro de estas se incluye la dormición de las semillas que intervienen en la cantidad que germinarán o que aguardarán condiciones más favorables en el banco de semillas del suelo.

En este ensayo realizado para evaluar el efecto del ambiente lumínico y térmico sobre la dormición, las fechas de siembra elegidas (20 de mayo, 15 de julio y 12 de octubre) intentaron representar distintos momentos del año. Es decir, a nivel ambiental, las condiciones de luz y temperatura son diferentes y, a su vez, a nivel agrícola, los lotes de producción, donde *Brassica* es considerada maleza, se encuentran atravesando distintas fases del ciclo de los cultivos, ya sea de invierno o de verano. La primera fecha de siembra, con los días acortándose y con la temperatura disminuyendo, presentó condiciones desfavorables para la floración de las plantas madre que influyeron en las semillas favoreciendo, en general, la dormición.

Esto, llevado a un lote agrícola, representa una gran dificultad en el futuro al tener una gran proporción de semillas dormidas en el banco de semillas del suelo que pueden ir germinando escalonadamente, evitando los controles físicos y/o químicos y compitiendo

por los recursos con el cultivo. Para la segunda fecha, los días comienzan a alargarse y las temperaturas van en aumento, por lo que las condiciones ambientales son más favorables y la dormición fue menor. Finalmente, durante la tercera fecha de siembra, los días se alargan aún más y las temperaturas ya son más cálidas, por lo que las condiciones ambientales más favorables implicarían que la dormición debería ser poca o casi imperceptible. Esto sería lo más deseable en un lote agrícola, ya que tendríamos una germinación de malezas más parejas, permitiendo un único control más efectivo y evitando la germinación escalonada durante todo el ciclo del cultivo que esté en producción.

El estudio de *Brassica rapa* L. es importante ya que es una maleza cada vez más presente en los lotes. Su cercano parentesco con *Brassica napus* L. y la posibilidad de cruzamiento existente entre ellas hace que sea muy factible que *B. rapa* adquiera resistencia de cultivos de *B. napus* o, incluso, que la adquiera espontáneamente por el uso incorrecto de herbicidas (ej: uso repetido de principios activos con el mismo modo de acción). Conocer la interacción de esta maleza con el ambiente que la rodea permitirá evaluar mejor el comportamiento de esta y de su descendencia para poder brindar al sector agrícola soluciones efectivas de manejo de *B. rapa*.

CONCLUSIONES

- A una temperatura de 10°C, la mayoría de los biotipos no germinaron. Por lo que se cree que el rango de temperatura óptima de germinación debe ser mayor, y que esa temperatura induce dormición en *Brassica rapa*.
- Los biotipos se comportaron de manera distinta entre sí siendo distintas las características de la planta madre y las de germinación durante las tres fechas evaluadas.
- El efecto de la fecha de siembra sobre la dormición se observó en las semillas expuestas a 20°C y se expresó especialmente en los biotipos LSA, ERI, BAL19 y, en menor medida, TSA.
- Se recomienda seguir investigando los biotipos BAL13 e IBA que presentaron comportamientos particulares.
- En el biotipo cultivado HYO la dormición no fue importante. Sin embargo, en el biotipo cultivado SUB, al estar presente la dormición, se sospecha un error en la identificación de este con otro biotipo silvestre, por lo que para repetir el ensayo se debería tomar muestras nuevas de semillas pertenecientes a este biotipo.
- Se aconseja repetir el ensayo y evaluar todos los biotipos en todas las fechas de siembra para obtener una mejor comparación entre fechas y entre biotipos.
- Se debe seguir con el estudio de *Brassica rapa* L. ya que cada vez está más presente en los lotes agrícolas y representa un grave problema para la producción agrícola.

BIBLIOGRAFÍA

- AAPRESID (Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa). 2022. Disponible en: <https://www.aapresid.org.ar/rem#>. Visitado por última vez: febrero 2022.
- Al-Shehbaz, I., Beilstein, M. y Kellogg, E. 2006. Systematics and phylogeny of the Brassicaceae (Cruciferae): an overview. *Plant Systematics and Evolution* 259:89– 120.
- Arroyo, D., Garay, J., Demaría, M., Rauber, R. 2019. INTA Ediciones. Malezas del Semiárido Central Argentino.
- Baskin JM, Baskin CC. 2004. A classification system for seed dormancy | Seed Science Research | Cambridge Core. Seed Science Research.
- Dechaine, J.M., Brock, M.T. & Weinig, C. 2015. Maternal environmental effects of competition influence evolutionary potential in rapeseed (*Brassica rapa*).
- Fernández, O.A., Leguizamón, E.S., Acciaresi, H.A. 2014. Malezas e invasoras de la Argentina. Tomo I: Ecología y manejo.
- Google Earth. 2023. Disponible en: <https://earth.google.com/web/>. Visitado por última vez: julio 2023.
- Huang, Z., Footitt, S., Tang, A., Finch-Savage, W.E. 2017. Predicted global warming scenarios impact on the mother plant to alter seed dormancy and germination behaviour in *Arabidopsis*.
- Ibarra, F.E. 1937. Malezas más comunes del trigo y del lino. Almanaque del Ministerio de Agricultura, Buenos Aires.
- INASE (Instituto Nacional de Semillas). 2019. Catálogo Nacional de Cultivares.
- Kerdaffrec, E., Nordborg M. 2017. The maternal environment interacts with genetic variation in regulating seed dormancy in Swedish *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE* 12(12): e0190242.
- Longás, M. D. L. M., Sabbatini, M. R., Chantre Balacca, G. R. 2012. Efecto materno sobre la dormición en semillas de malezas.
- Marzocca, A., Rapoport, E., Drausal, B. 2009. Malezas comestibles del cono sur y otras partes del planeta.
- Nagaharu, U.J.J.J.B., Nagaharu, N. 1935. Genome analysis in Brassica with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. *Jpn J Bot*, 7(7), 389-452.
- Pandolfo, C., Presotto, A., Torres Carbonell, F., Ureta, M.S., Poverene, M., Cantamutto, M. 2018. Transgene escape and persistence in an agroecosystem: the case of glyphosate resistant *Brassica rapa* L. in central Argentina. *Environmental Science and Pollution Research* 25(7):6251-6264.

Pérez García, F., Pita Villamil, J. M. 1999. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, España. Dormición de semillas.

Prina, A. 1995. Las crucíferas de la provincia de La Pampa, República Argentina.

Quezada, D.R. 2012. Biosíntesis y degradación de carotenoides en *Brassica spp.*: Evaluación de gen candidato.

Roach, D. A., Wulff, R. D. 2009. Maternal Effects in Plants. Annual Review of Ecology and Systematics, Vol. 18 (1987), pp. 209-235

SAGPyA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación). 1997. Solicitud de ensayo a campo de canola tolerante al herbicida glifosato. Resolución N° 228. CONABIA.

SENASA (Secretaría Nacional de Sanidad Ambiental). 2007. Resolución 305/2007.

Tutiempo.net. 2023. Clima de Bahía Blanca durante el 2022. Disponible en: <https://www.tutiempo.net/clima/2022/ws-877500.html>. Visitado por última vez: julio 2023.

Wolf, J. B., Wade, M. J. 2009. Philosophical Transactions of the Royal Society. What are maternal effects (and what are they not)?

ANEXO 1

Tabla 4. Análisis de la varianza de todas las variables de germinación. Variable dependiente: germinación. Variables de clasificación: fecha de siembra (siembra), temperatura y biotipo. Interacciones entre variables de clasificación. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos para cada parámetro reproductivo ($p < 0,05$).

Análisis de la varianza				
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Germinación	304	0,72	0,63	53,76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-valor
Modelo	25,17	71	0,35	8,31	<0,0001
Biotipo	7,73	9	0,86	20,13	<0,0001
Siembra	0,36	2	0,18	4,20	0,0162
Temperatura	12,09	2	6,05	141,66	<0,0001
Biotipo*Siembra	1,86	12	0,16	3,64	0,0001
Biotipo*Temperatura	1,90	18	0,11	2,47	0,0011
Siembra*Temperatura	0,28	4	0,07	1,66	0,1595
Biotipo*Siembra*Temperatura	0,94	24	0,04	0,92	0,5724
Error	9,90	232	0,04		
Total	35,08	303			

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,10725		
Error: 0,0427 gl: 232		
Biotipo	n	Medias \pm E.E.
TSA	24	0,14 \pm 0,04 a
LSA	30	0,23 \pm 0,04 ab
SUB	37	0,24 \pm 0,03 ab
IBA	40	0,28 \pm 0,03 b
BAL19	24	0,40 \pm 0,04 c
BAL13	39	0,43 \pm 0,03 c
BAL08	39	0,44 \pm 0,03 c
SCB	25	0,49 \pm 0,04 c
ERI	22	0,52 \pm 0,04 c
HYO	24	0,79 \pm 0,04 d

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,05813		
Error: 0,0427 gl: 232		
Siembra	n	Medias \pm E.E.
1	123	0,35 \pm 0,02 a
3	102	0,38 \pm 0,02 a
2	79	0,47 \pm 0,02 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,05719		
Error: 0,0427 gl: 232		
Temperatura	n	Medias \pm E.E.
10	102	0,12 \pm 0,02 a
20	101	0,45 \pm 0,02 b
30	101	0,60 \pm 0,02 c

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 5. Análisis de la varianza de fecha de siembra, biotipo y su interacción. Variable dependiente: germinación. Variable de clasificación: fecha de siembra (siembra) y biotipo. Particiones: temperatura (10°C, 20°C y 30°C). Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos para cada parámetro reproductivo ($p < 0,05$).

Análisis de la varianza					
Temperatura	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
10	Germinación	102	0,70	0,61	117,70

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)						
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-valor	
Modelo	3,38	23	0,15	7,85	<0,0001	
Siembra	0,09	2	0,05	2,47	0,0911	
Biotipo	2,95	9	0,33	17,48	<0,0001	
Siembra * Biotipo	0,34	12	0,03	1,53	0,1321	
Error	1,46	78	0,02			
Total	4,84	101				

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,06719		
Error: 0,0187 gl: 78		
Siembra	n	Medias \pm E.E.
1	40	0,10 \pm 0,02 a
3	36	0,11 \pm 0,02 ab
2	26	0,18 \pm 0,03 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa =0,12342		
Error: 0,0187 gl: 78		
Biotipo	n	Medias \pm E.E.
TSA	8	0,01 \pm 0,05 a
IBA	14	0,02 \pm 0,04 a
BAL13	12	0,03 \pm 0,04 a
LSA	10	0,05 \pm 0,04 a
SUB	12	0,06 \pm 0,04 a
BAL08	13	0,07 \pm 0,04 a
SCB	8	0,09 \pm 0,05 a
BAL19	9	0,11 \pm 0,05 a
ERI	8	0,25 \pm 0,05 b
HYO	8	0,67 \pm 0,05 c

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa =0,12342			
Error: 0,0187 gl: 78			
Siembra	Biotipo	n	Medias \pm E.E.
3	HYO	0	sd \pm sd a
2	TSA	0	sd \pm sd b
2	BAL19	0	sd \pm sd c
2	ERI	0	sd \pm sd d
2	LSA	0	sd \pm sd e
3	SCB	0	sd \pm sd f
1	TSA	4	0,00 \pm 0,07 g
1	LSA	4	0,00 \pm 0,07 g
1	IBA	4	0,00 \pm 0,07 g
1	SUB	4	0,00 \pm 0,07 g
1	BAL08	4	0,00 \pm 0,07 g
2	SCB	4	0,01 \pm 0,07 gh
1	BAL13	3	0,01 \pm 0,08 gh
3	BAL13	5	0,02 \pm 0,06 gh
3	IBA	4	0,02 \pm 0,07 gh

1	BAL19	4	0,02 ± 0,07 gh
3	TSA	4	0,03 ± 0,07 gh
3	BAL08	5	0,03 ± 0,06 gh
2	IBA	6	0,05 ± 0,06 gh
2	BAL13	4	0,06 ± 0,07 gh
2	SUB	4	0,07 ± 0,07 gh
1	ERI	5	0,08 ± 0,06 gh
3	SUB	4	0,10 ± 0,07 gh
3	LSA	6	0,10 ± 0,06 gh
1	SCB	4	0,17 ± 0,07 gh
2	BAL08	4	0,19 ± 0,07 gh
3	BAL19	5	0,19 ± 0,06 h
3	ERI	3	0,41 ± 0,08 i
1	HYO	4	0,67 ± 0,07 j
2	HYO	4	0,68 ± 0,07 j

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Análisis de la varianza					
Temperatura	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
20	Germinación	101	0,58	0,45	48,50

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-valor
Modelo	5,00	23	0,22	4,57	<0,0001
Siembra	0,61	2	0,30	6,39	0,0027
Biotipo	3,18	9	0,35	7,41	<0,0001
Siembra * Biotipo	1,22	12	0,10	2,13	0,0243
Error	3,67	77	0,05		
Total	8,66	100			

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,10816		
Error: 0,0476 gl: 77		
Siembra	n	Medias ± E.E.
1	43	0,39 ± 0,03 a
3	32	0,43 ± 0,04 a
2	26	0,58 ± 0,04 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,19961		
Error: 0,0476 gl: 77		
Biotipo	n	Medias ± E.E.
TSA	8	0,17 ± 0,08 a
SUB	12	0,24 ± 0,06 a
IBA	13	0,32 ± 0,07 ab
LSA	10	0,32 ± 0,07 ab
BAL08	13	0,50 ± 0,06 bc
BAL13	14	0,51 ± 0,06 bc
BAL19	7	0,52 ± 0,08 bc
ERI	7	0,56 ± 0,08 c
SCB	9	0,58 ± 0,07 c
HYO	8	0,90 ± 0,08 d

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,30721			
Error: 0,0476 gl: 77			
Siembra	Biotipo	n	Medias ± E.E.
2	LSA	0	sd ± sd a
2	ERI	0	sd ± sd b
2	BAL19	0	sd ± sd c
3	SCB	0	sd ± sd d

3	HYO	0	sd ± sd e
2	TSA	0	sd ± sd f
1	SUB	4	0,08 ± 0,07 g
3	TSA	4	0,10 ± 0,07 gh
1	LSA	4	0,12 ± 0,07 gh
1	IBA	5	0,18 ± 0,07 gi
1	TSA	4	0,23 ± 0,07 gj
3	IBA	2	0,24 ± 0,07 gk
2	SUB	4	0,29 ± 0,08 gk
1	BAL19	4	0,30 ± 0,06 gk
3	SUB	4	0,35 ± 0,07 gk
3	BAL08	5	0,38 ± 0,07 hl
1	ERI	4	0,44 ± 0,07 im
3	BAL13	5	0,44 ± 0,06 im
1	BAL08	4	0,47 ± 0,06 im
1	SCB	5	0,47 ± 0,07 jm
2	BAL13	4	0,51 ± 0,07 jm
3	LSA	6	0,52 ± 0,06 km
2	IBA	6	0,52 ± 0,07 km
1	BAL13	5	0,58 ± 0,06 kn
2	BAL08	4	0,66 ± 0,07 ln
3	ERI	3	0,69 ± 0,07 lo
2	SCB	4	0,69 ± 0,06 mo
3	BAL19	3	0,73 ± 0,08 mo
2	HYO	4	0,83 ± 0,07 no
1	HYO	4	0,98 ± 0,07 o

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Análisis de la varianza					
Temperatura	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
30	Germinación	101	0,50	0,35	42,25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)						
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-valor	
Modelo	4,78	23	0,21	3,35	<0,0001	
Siembra	0,03	2	0,02	0,27	0,7636	
Biotipo	3,50	9	0,39	6,26	<0,0001	
Siembra * Biotipo	1,25	12	0,10	1,67	0,0893	
Error	4,78	77	0,06			
Total	9,55	100				

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,12246		
Error: 0,0620 gl: 77		
Siembra	n	Medias ± E.E.
1	40	0,58 ± 0,04 a
3	34	0,58 ± 0,04 a
2	27	0,64 ± 0,05 a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,22734		
Error: 0,0620 gl: 77		
Biotipo	n	Medias ± E.E.
TSA	8	0,25 ± 0,09 a
LSA	10	0,32 ± 0,08 ab
SUB	13	0,43 ± 0,07 ac
IBA	13	0,50 ± 0,07 bc
BAL19	8	0,58 ± 0,09 cd
BAL13	13	0,74 ± 0,07 d
ERI	7	0,75 ± 0,10 d
BAL08	13	0,75 ± 0,07 d
HYO	8	0,81 ± 0,09 d

SCB	8	0,81 ± 0,09 d
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)		

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,34629			
Error: 0,0620 gl: 77			
Siembra	Biotipo	n	Medias ± E.E.
3	SCB	0	sd ± sd a
2	ERI	0	sd ± sd b
2	BAL19	0	sd ± sd c
3	HYO	0	sd ± sd d
2	LSA	0	sd ± sd e
2	TSA	0	sd ± sd f
1	LSA	4	0,11 ± 0,12 g
3	TSA	4	0,22 ± 0,12 gh
1	TSA	4	0,29 ± 0,12 gi
1	SUB	4	0,37 ± 0,12 gj
1	BAL19	4	0,38 ± 0,12 gj
2	IBA	6	0,40 ± 0,10 gj
3	SUB	4	0,42 ± 0,12 gk
2	SUB	5	0,50 ± 0,11 hl
3	LSA	6	0,53 ± 0,10 hl
3	IBA	3	0,54 ± 0,14 hm
1	IBA	4	0,55 ± 0,12 hm
3	BAL13	5	0,59 ± 0,11 im
1	ERI	4	0,64 ± 0,12 jm
2	BAL08	4	0,68 ± 0,12 jm
2	HYO	4	0,70 ± 0,12 jm
3	BAL08	5	0,72 ± 0,11 km
2	BAL13	4	0,74 ± 0,12 km
3	BAL19	4	0,78 ± 0,12 lm
1	SCB	4	0,79 ± 0,12 lm
2	SCB	4	0,84 ± 0,12 lm
1	BAL08	4	0,86 ± 0,12 lm
3	ERI	3	0,86 ± 0,14 lm
1	BAL13	4	0,90 ± 0,12 m
1	HYO	4	0,92 ± 0,12 m
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)			

Tabla 6. Análisis de la varianza de todas las fechas de siembra. Variable dependiente: germinación. Variable de clasificación: fecha de siembra (siembra). Particiones: temperatura (10°C, 20°C y 30°C). Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos para cada parámetro reproductivo (p<0,05).

Análisis de la varianza					
Temperatura	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
10	Germinación	102	0,02	0,00	188,39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)						
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-valor	
Modelo	0,09	2	0,05	0,96	0,3847	
Siembra	0,09	2	0,05	0,96	0,3847	
Error	4,75	99	0,05			
Total	4,84	101				

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,10720		
Error: 0,0480 gl: 99		
Siembra	n	Medias ± E.E.
1	40	0,10 ± 0,03 a

3	36	0,10 ± 0,04 a
2	26	0,17 ± 0,04 a
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)		

Análisis de la varianza					
Temperatura	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
20	Germinación	101	0,07	0,05	63,73

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-valor
Modelo	0,61	2	0,30	3,70	0,0283
Siembra	0,61	2	0,30	3,70	0,0283
Error	8,06	98	0,08		
Total	8,66	100			

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,10720		
Error: 0,0822 gl: 98		
Siembra	n	Medias ± E.E.
1	43	0,39 ± 0,04 a
3	32	0,43 ± 0,05 ab
2	26	0,58 ± 0,06 b
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)		

Análisis de la varianza					
Temperatura	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
30	Germinación	101	3,5E-03	0,00	52,87

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-valor
Modelo	0,03	2	0,02	0,17	0,8416
Siembra	0,03	2	0,02	0,17	0,8416
Error	9,52	98	0,10		
Total	9,55	100			

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,10720		
Error: 0,0480 gl: 99		
Siembra	n	Medias ± E.E.
3	34	0,58 ± 0,05 a
1	40	0,58 ± 0,05 a
2	27	0,62 ± 0,06 a
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)		

Tabla 7. Análisis de la varianza de la primera fecha de siembra. Variable dependiente: germinación. Variable de clasificación: biotipo. Particiones: temperatura (10°C, 20°C y 30°C). Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos para cada parámetro reproductivo ($p < 0,05$).

Análisis de la varianza					
Temperatura	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
10	Germinación	40	0,90	0,88	76,24

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-valor
Modelo	1,55	9	0,17	31,56	<0,0001
Biotipo	1,55	9	0,17	31,56	<0,0001
Error	0,16	30	0,01		

Total	1,71	39			
-------	------	----	--	--	--

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,10723		
Error: 0,0054 gl: 30		
Biotipo	n	Medias \pm E.E.
TSA	4	0,00 \pm 0,04 a
BAL08	4	0,00 \pm 0,04 a
SUB	4	0,00 \pm 0,04 a
IBA	4	0,00 \pm 0,04 a
LSA	4	0,00 \pm 0,04 a
BAL13	3	0,01 \pm 0,04 a
BAL19	4	0,02 \pm 0,04 a
ERI	5	0,08 \pm 0,03 ab
SCB	4	0,17 \pm 0,04 b
HYO	4	0,67 \pm 0,04 c
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)		

Análisis de la varianza					
Temperatura	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
20	Germinación	43	0,66	0,57	52,03

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-valor
Modelo	2,65	9	0,29	7,24	<0,0001
Biotipo	2,65	9	0,29	7,24	<0,0001
Error	1,34	33	0,04		
Total	3,99	42			

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,28115		
Error: 0,0406 gl: 33		
Biotipo	n	Medias \pm E.E.
SUB	4	0,08 \pm 0,10 a
LSA	4	0,12 \pm 0,10 a
IBA	5	0,18 \pm 0,09 ab
TSA	4	0,23 \pm 0,10 ac
BAL19	4	0,30 \pm 0,10 ac
ERI	4	0,44 \pm 0,10 bd
BAL08	4	0,47 \pm 0,10 cd
SCB	5	0,47 \pm 0,09 cd
BAL13	5	0,58 \pm 0,09 d
HYO	4	0,98 \pm 0,10 e
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)		

Análisis de la varianza					
Temperatura	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
30	Germinación	40	0,63	0,52	41,39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-valor
Modelo	2,91	9	0,32	5,62	0,0001
Biotipo	2,91	9	0,32	5,62	0,0001
Error	1,73	30	0,06		
Total	4,64	39			

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,34654		
Error: 0,0576 gl: 30		
Biotipo	n	Medias
LSA	4	0,11 \pm 0,12 a

TSA	4	0,29 ± 0,12 ab
SUB	4	0,37 ± 0,12 ac
BAL19	4	0,38 ± 0,12 ac
IBA	4	0,55 ± 0,12 bd
ERI	4	0,64 ± 0,12 ce
SCB	4	0,79 ± 0,12 de
BAL08	4	0,86 ± 0,12 de
BAL13	4	0,90 ± 0,12 e
HYO	4	0,92 ± 0,12 e
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)		

Tabla 8. Análisis de la varianza de la segunda fecha de siembra. Variable dependiente: germinación. Variable de clasificación: biotipo. Particiones: temperatura (10°C, 20°C y 30°C). Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos para cada parámetro reproductivo ($p < 0,05$).

Análisis de la varianza					
Temperatura	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
10	Germinación	26	0,75	0,69	87,08

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)						
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-valor	
Modelo	1,30	5	0,26	12,21	<0,0001	
Biotipo	1,30	5	0,26	12,21	<0,0001	
Error	0,43	20	0,02			
Total	1,73	25				

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,20932		
Error: 0,0213 gl: 20		
Biotipo	n	Medias ± E.E.
SCB	4	0,01 ± 0,07 a
IBA	6	0,05 ± 0,06 a
BAL13	4	0,06 ± 0,07 a
SUB	4	0,07 ± 0,07 a
BAL08	4	0,19 ± 0,07 a
HYO	4	0,68 ± 0,07 b
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)		

Análisis de la varianza					
Temperatura	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
20	Germinación	26	0,41	0,27	38,43

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)						
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-valor	
Modelo	0,69	5	0,14	2,81	0,0441	
Biotipo	0,69	5	0,14	2,81	0,0441	
Error	0,99	20	0,05			
Total	1,68	25				

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,31843		
Error: 0,0493 gl: 20		
Biotipo	n	Medias ± E.E.
SUB	4	0,29 ± 0,11 a
BAL13	4	0,51 ± 0,11 ab
IBA	6	0,52 ± 0,09 ab
BAL08	4	0,66 ± 0,11 b
SCB	4	0,69 ± 0,11 b

HYO	4	0,83 ± 0,11 b
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)		

Análisis de la varianza					
Temperatura	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
30	Germinación	27	0,59	0,49	24,00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-valor
Modelo	0,67	5	0,13	6,02	0,0013
Biotipo	0,67	5	0,13	6,02	0,0013
Error	0,46	21	0,02		
Total	1,13	26			

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,20876		
Error: 0,0221 gl: 21		
Biotipo	n	Medias
IBA	6	0,40 ± 0,06 a
SUB	5	0,50 ± 0,07 ab
BAL08	4	0,68 ± 0,07 bc
HYO	4	0,70 ± 0,07 bc
BAL13	4	0,74 ± 0,07 c
SCB	4	0,84 ± 0,07 c
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)		

Tabla 9. Análisis de la varianza de la tercera fecha de siembra. Variable dependiente: germinación. Variable de clasificación: biotipo. Particiones: temperatura (10°C, 20°C y 30°C). Las letras distintas indican diferencias significativas entre los distintos biotipos para cada parámetro reproductivo ($p < 0,05$).

Análisis de la varianza					
Temperatura	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
10	Germinación	36	0,34	0,17	174,92

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-valor
Modelo	0,44	7	0,06	2,03	0,0866
Biotipo	0,44	7	0,06	2,03	0,0866
Error	0,87	28	0,03		
Total	1,31	35			

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,24571		
Error: 0,0311 gl: 28		
Biotipo	n	Medias ± E.E.
BAL13	5	0,02 ± 0,08 a
IBA	4	0,02 ± 0,09 a
BAL08	5	0,03 ± 0,08 a
TSA	4	0,03 ± 0,09 a
LSA	6	0,10 ± 0,07 a
SUB	4	0,10 ± 0,09 a
BAL19	5	0,19 ± 0,08 ab
ERI	3	0,41 ± 0,10 b
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)		

Análisis de la varianza					
Temperatura	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV

20	Germinación	32	0,44	0,28	54,94
----	-------------	----	------	------	-------

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-valor
Modelo	1,05	7	0,15	2,69	0,0328
Biotipo	1,05	7	0,15	2,69	0,0328
Error	1,34	24	0,06		
Total	2,39	31			

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,36408		
Error: 0,0557 gl: 24		
Biotipo	n	Medias \pm E.E.
TSA	4	0,10 \pm 0,12 a
IBA	2	0,24 \pm 0,17 ab
SUB	4	0,35 \pm 0,12 ac
BAL08	5	0,38 \pm 0,11 ad
BAL13	5	0,44 \pm 0,11 bd
LSA	6	0,52 \pm 0,10 bd
ERI	3	0,69 \pm 0,14 cd
BAL19	3	0,73 \pm 0,14 d
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)		

Análisis de la varianza					
Temperatura	Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
30	Germinación	34	0,31	0,12	54,64

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grado de libertad	Cuadrado medio	F	p-valor
Modelo	1,16	7	0,17	1,67	0,1596
Biotipo	1,16	7	0,17	1,67	0,1596
Error	2,58	26	0,10		
Total	3,75	33			

Test: LSD Fisher $\alpha=0,05$ Diferencia menos significativa=0,45638		
Error: 0,0994 gl: 26		
Biotipo	n	Medias
TSA	4	0,22 \pm 0,16 a
SUB	4	0,42 \pm 0,16 ab
LSA	6	0,53 \pm 0,13 ab
IBA	3	0,54 \pm 0,18 ab
BAL13	5	0,59 \pm 0,14 ab
BAL08	5	0,72 \pm 0,14 b
BAL19	4	0,78 \pm 0,16 b
ERI	3	0,86 \pm 0,18 b
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)		