

EFFECTO DE LOS COTILEDONES Y EL USO DE SEMILLA HÍBRIDA EN BRÓCOLI (*Brassica oleracea* var. *italica* L.)

N. ASPREA, J. RATTIN¹ y A. DI BENEDETTO²

Recibido: 18/04/05

Aceptado: 28/10/05

RESUMEN

Los objetivos de este ensayo fueron (a) cuantificar la acumulación de biomasa en función de la eliminación parcial o total de los cotiledones tempranamente durante la fase de propagación en una bandeja multicelda y (b) evaluar el efecto sobre dos materiales genéticos (variedad de polinización abierta o híbridos F_1) durante el ciclo primaveral-estival en el cinturón hortícola de la ciudad de Mar del Plata. Los resultados indican que la falta total o parcial de cotiledones funcionales durante la expansión de las primeras hojas verdaderas de la planta puede afectar la generación de biomasa fotosintética luego del trasplante. Las diferencias a favor del uso de híbridos F_1 se amplificaron bajo condiciones de temperatura supraóptimas.

Palabras clave. Biomasa, brócoli, cotiledones.

THE EFFECT OF COTILEDONS AND F_1 SEEDS ON BROCCOLI (*Brassica oleracea* var. *italica* L.) GROWTH PERFORMANCE

SUMMARY

Our objective was to see the effect of decotiledonized plants and two genetic materials (open polinized variety vs. F_1 hybrids) on broccoli biomass development during the summer crop cycle at the neighbourhood of Mar del Plata (Argentine) city. The results showed that decotiledonized seedlings decrease biomass development after transplant. The best performance for F_1 hybrids were increased under field supraoptimal air temperatures.

Key words. plant biomass, broccoli, cotiledons.

INTRODUCCIÓN

La producción de especies crucíferas (brócoli, coliflor y repollo) en sistemas hortícolas intensivos se apoya en semillas de alta calidad que permiten una rápida germinación-emergencia así como sostenidas tasas de crecimiento para optimizar el ciclo de cultivo.

Se ha encontrado que los cotiledones juegan un rol importante durante la etapa de implantación de las plantas superiores (Vieverskov, 1985). Antes de

la germinación, la función de los cotiledones es acumular reservas provenientes de la planta madre. Durante y después de la germinación, los cotiledones transfieren estos materiales de reserva (lípidos, carbohidratos, minerales) a los tallos y las raíces en desarrollo (Marshall y Kozlowaki, 1975, 1976; Ashcroft y Murray, 1979). Por otro lado, los cotiledones de algunas especies emergen a través de las cubiertas seminales y el nivel del suelo y ejercen una segunda función, es decir, la asimilación fotosintética durante las primeras etapas de establecimiento

¹Cátedra de Horticultura, Facultad de Ciencias Agrarias (UNMP), Unidad Integrada I.N.T.A. Estación Experimental Agropecuaria Balcarce - Facultad de Ciencias Agrarias (U.N.M.P.), Balcarce, Provincia de Buenos Aires, Argentina. e-mail: jrattin@balcarce.inta.gov.ar

²Cátedra de Floricultura (FAUBA), Av. San Martín 4453 (1417) Buenos Aires, Argentina e-mail: dibenede@agro.uba.ar Programación U.B.A. C. y T. 2004-2005 (Proyecto G 031)

de la plántula (Brown y Huber, 1987; Harris *et al.*, 1986; Lovell y Moore, 1971; Machado *et al.*, 1974; Marshall y Kozlowski, 1974; Mayoral *et al.*, 1985).

Un hecho común durante la fase de propagación en bandejas multimacetas en el área de producción (cinturón hortícola de la ciudad de Mar del Plata) es que las plántulas que han germinado con un elevado vigor sufren un ataque temprano de algunos patógenos (*Botrytis cinerea*, *Peronospera* sp.) que determinan daños importantes y hasta muerte de los cotiledones. En estas situaciones, la tasa de crecimiento posterior hasta el respectivo trasplante, depende del momento y el grado del daño ocasionado generando una alta heterogeneidad en el material a transplantar.

El objetivo de este ensayo fue evaluar el efecto de la eliminación de los cotiledones y del material genético (variedades o híbridos F_1) sobre la acumulación de biomasa en brócoli en dos épocas de trasplante durante el ciclo primavera-verano-estival.

MATERIALES Y MÉTODOS

El diseño del ensayo incluyó la siembra en bandejas multimacetas de plástico de 200 celdas para evaluar los siguientes tratamientos:

- a. *Control*: las plantas conservaron sus cotiledones hasta el momento del trasplante.
- b. *Tratamiento 1*: se eliminó uno de los cotiledones.
- c. *Tratamiento 2*: se eliminaron los dos cotiledones.

La eliminación de los cotiledones se realizó antes de la expansión total de la primera hoja verdadera.

A partir del momento que las plantas alcanzaron el tamaño de trasplante, se cultivaron en macetas de 3 litros de capacidad. En ese momento, se realizó una cosecha destructiva compuesta por tres repeticiones (10 plántulas cada una) por tratamiento con secado a estufa (60 °C) durante 10 días para evaluar la acumulación de peso seco particionado en tallos, hojas y raíces. Con posterioridad, se realizaron cosechas similares a los 15, 30, 45 y 60 días del trasplante para establecer la dinámica de acumulación de materia seca durante el ciclo de cultivo. El área foliar se es-

timó utilizando un sacabocado (14 mm de diámetro) y relacionando el peso seco del bocado con el peso seco de las hojas cosechadas.

Se utilizaron para este proyecto semillas híbridas de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica* L.) 'Premium Crop' (Takii Seeds) y una variedad de polinización abierta 'De Cicco' (Royal Sluis). Los ensayos se desarrollaron en la Unidad Integrada INTA-Facultad Ciencias Agrarias (UNMDP) (Balcarce, provincia de Buenos Aires) bajo un Diseño Estadístico Factorial (material genético y remoción de cotiledones). Los datos se evaluaron a través de un Análisis de Variancia (ANOVA) y se separaron las medias utilizando el test de Mínima Diferencia Significativa (Fisher L.S.D., $p \leq 0,05$) y test de Tukey ($p \leq 0,05$). El primer experimento se realizó entre octubre y diciembre (2003) mientras que la repetición del mismo, en condiciones ambientales supraóptimas, se desarrolló entre los meses de enero y marzo de 2004.

La temperatura fue registrada por un sensor HOBO modelo H08-001-02 protegido de la radiación directa y situado dentro del canopeo de cultivo a la altura de las macetas. El sensor estuvo conectado a un data logger HBO H8 que almacenó las mediciones cada 30 minutos. Quincenalmente los datos fueron extraídos utilizando el software Onset Computer Corporation's Box CarO.

RESULTADOS

Mientras que las temperaturas medias oscilaron entre 19,69 y 25,65 °C, las temperaturas máximas mostraron un leve incremento entre los meses de octubre y diciembre, un fuerte aumento en enero-febrero y pequeña disminución en marzo en relación con los dos meses anteriores (Cuadro 1).

El ensayo realizado entre octubre y diciembre mostró una acumulación de peso seco total (Fig. 1A) a los 60 días del trasplante con diferencias significativas para los dos materiales genéticos utilizados (híbrido F_1 o variedad de polinización abierta) sólo cuando las plántulas conservaron los dos cotiledones. Mientras que no se encontraron diferencias significativas en el peso seco de raíces (Fig. 2A) ni hojas (Fig. 4A) entre el híbrido y la variedad salvo cuando se decapitaron los dos cotiledones, los tallos presentaron una mayor acumulación de peso seco entre materiales genéticos (Fig. 3A); en estos, las

CUADRO 1. Temperaturas mínimas y máximas promedio durante el desarrollo de los ensayos.

	Temperatura (°C)		
	Mínima	Media	Máxima
Octubre	10,23	19,69	25,95
Noviembre	7,80	21,87	27,91
Diciembre	10,60	26,61	29,10
Enero	12,93	25,65	38,77
Febrero	9,42	23,85	39,22
Marzo	7,83	21,35	37,44

diferencias entre plántulas con y sin cotiledones fueron significativas sólo para el híbrido F_1 .

En la segunda fecha de siembra disminuyeron los valores de peso seco total a los 60 días del transplante en todos los lotes (Fig. 1B); la evolución de esta variable fue diferente entre los tratamientos. Aunque las diferencias entre la semilla híbrida y la variedad fueron no significativas; la eliminación de los dos cotiledones afectó la acumulación de materia seca en ambos materiales genéticos. Sin embargo, los cambios no fueron iguales en todos los órganos analizados. Se encontraron en esta situación diferencias de peso seco acumulado en el sistema radical (Fig. 2B) entre los lotes con y sin cotiledones. El peso seco del tallo (Fig. 3B) fue mayor en plántulas provenientes de semillas F_1 y disminuyó a medida que se eliminaban tempranamente los cotiledones. El peso seco de las hojas (Fig. 4B) sólo mostró algunas diferencias entre lotes con o sin cotiledones.

El área foliar desarrollada fue significativamente mayor para el lote testigo de semillas híbridas en la primera fecha de siembra (Fig. 5A) sin diferencias entre materiales genéticos cuando se eliminaban los cotiledones; de todos modos, el peor resultado se obtuvo en las plántulas que habían perdido ambos cotiledones. En la segunda fecha de siembra (Fig. 5B) el desarrollo del área foliar fue siempre mayor para los lotes de semilla híbrida y disminuyó a medida que se eliminaban uno o ambos cotiledones (Fig. 5B).

No se encontraron diferencias significativas en la tasa de crecimiento relativo (TCR) a los 60 días del

transplante entre materiales genéticos y plantas con y sin cotiledones en las dos fechas de siembra (Cuadro 2). Los híbridos comerciales mostraron una mayor tasa de asimilación neta (TAN) en todas las situaciones (número de cotiledones presentes y fechas de siembra) mientras que la presencia o ausencia de cotiledones sólo fue significativa en el híbrido durante la primera fecha de siembra. No se encontró un patrón definido en el área foliar específica (AFE) a pesar que se observaron algunas diferencias significativas entre materiales genéticos y tratamientos durante la fase de propagación.

DISCUSIÓN

La pérdida de una parte de la biomasa cotiledonal es común en el área hortícola que rodea la ciudad de Mar del Plata y se halla asociada con un inadecuado manejo cultural en los establecimientos menos tecnificados o al ataque de patógenos tales como *Botrytis cinerea* y *Peronospera* sp. en los establecimientos propagadores. Una de las hipótesis de este trabajo era que la falta total o parcial de cotiledones funcionales durante la expansión de las primeras hojas verdaderas de la planta podía reducir la generación de biomasa fotosintética y consecuentemente la tasa de crecimiento vegetativo. Los resultados indican que aunque el área foliar expandida a los 60 días del transplante fue significativamente diferente, en especial para la segunda fecha de siembra (Fig. 5), no se encontraron diferencias significativas en la tasa de crecimiento relativo (TCR) (Cuadro 2). La eliminación de los cotiledones afectó la ganancia de peso seco, especialmente durante la segunda fecha de siembra (Fig. 1). La tasa de asimilación neta (TAN) al final del experimento fue mayor para los híbridos que para los lotes provenientes de semillas de polinización abierta. Durante la primera fecha de siembra la ausencia de cotiledones funcionales incrementó la TAN (Cuadro 2); esto no parecería raro ya que se ha encontrado que la eliminación de las primeras hojas o el sombreado de las mismas causan un incremento en la tasa de fijación fotosintética en otras especies (Veierskov, 1985), especialmente cuando no existe sombreado mutuo entre plantas vecinas como en este trabajo.

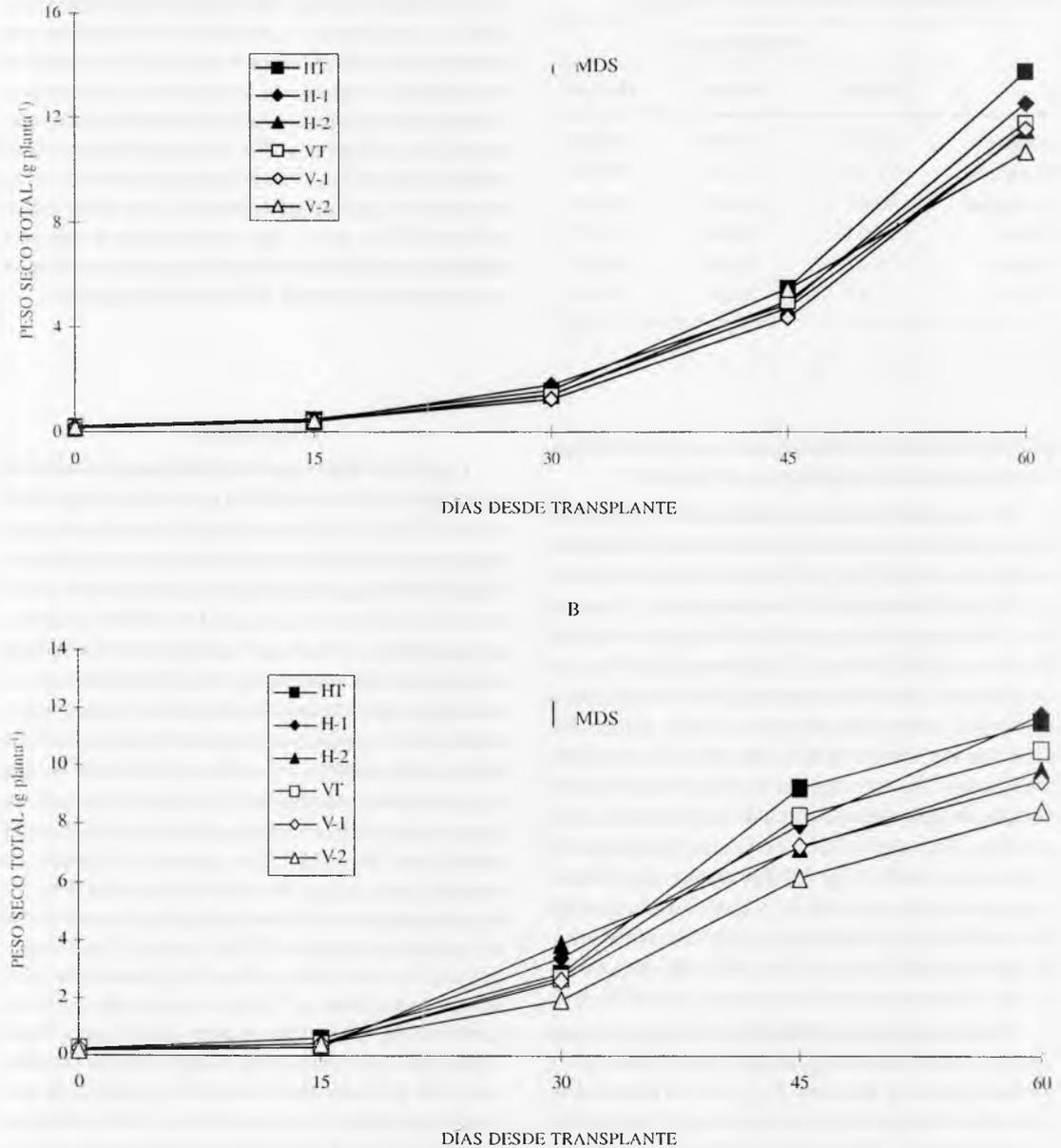
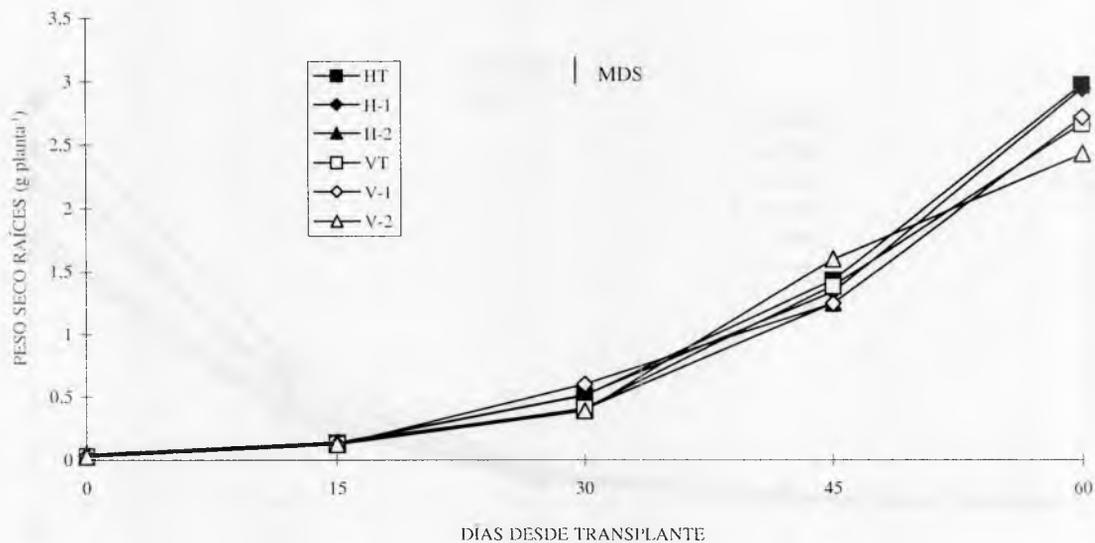


FIGURA 1. Cambios en el peso seco total (g planta⁻¹) para plantas de brócoli iniciadas a partir de semilla híbrida (H) o de una variedad de polinización abierta (V) con los cotiledones intactos (T) o eliminados (1-2) antes del transplante en dos fechas de siembra (A-B). Se indica el valor de la Mínima Diferencia Significativa ($p \leq 0.05$).



B

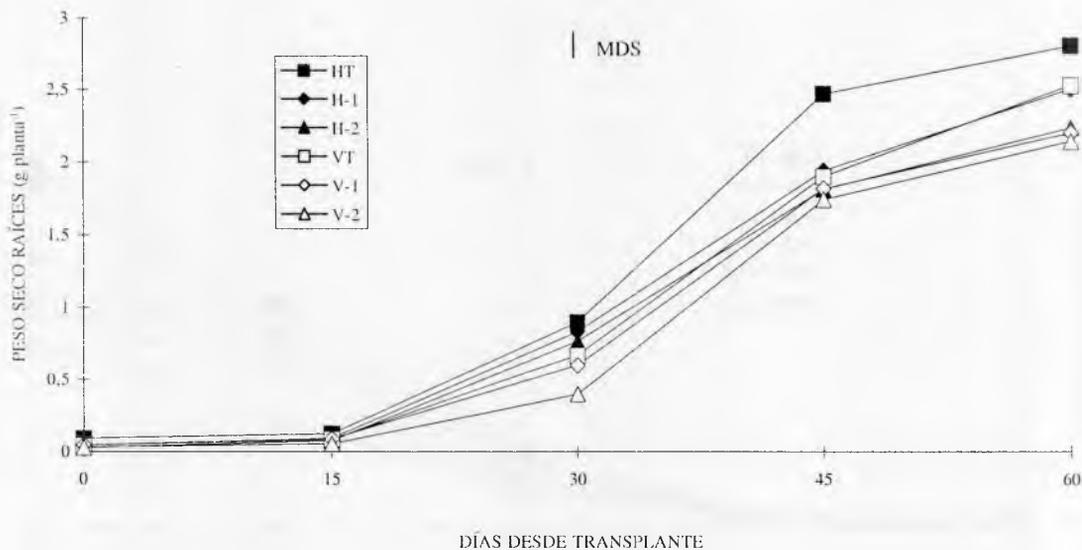


FIGURA 2. Cambios en el peso seco de raíces (g planta⁻¹) para plantas de brócoli iniciadas a partir de semilla híbrida (H) o de una variedad de polinización abierta (V) con los cotiledones intactos (T) o eliminados (1-2) antes del transplante en dos fechas de siembra (A-B). Se indica el valor de la Mínima Diferencia Significativa ($p \leq 0.05$).

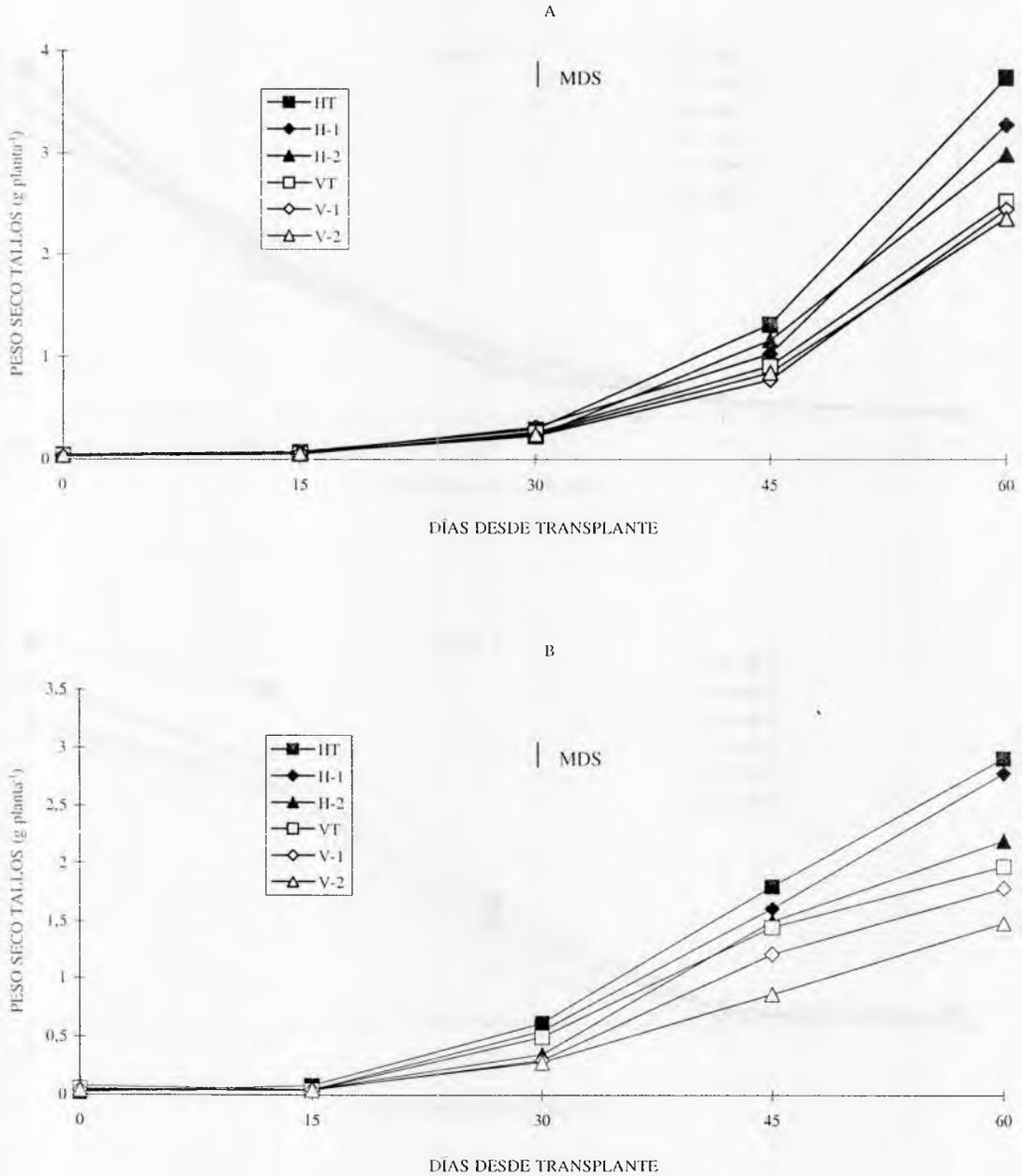


FIGURA 3. Cambios en el peso seco de los tallos (g planta^{-1}) para plantas de brócoli iniciadas a partir de semilla híbrida (H) o de una variedad de polinización abierta (V) con los cotilédones intactos (T) o eliminados (1-2) antes del transplante en dos fechas de siembra (A-B). Se indica el valor de la Mínima Diferencia Significativa ($p \leq 0.05$).

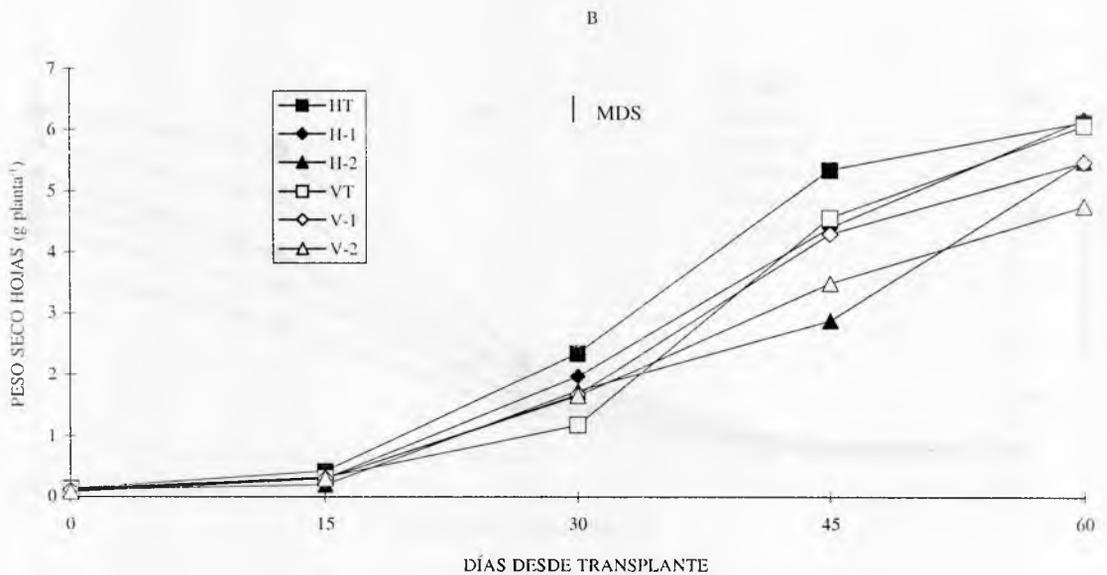
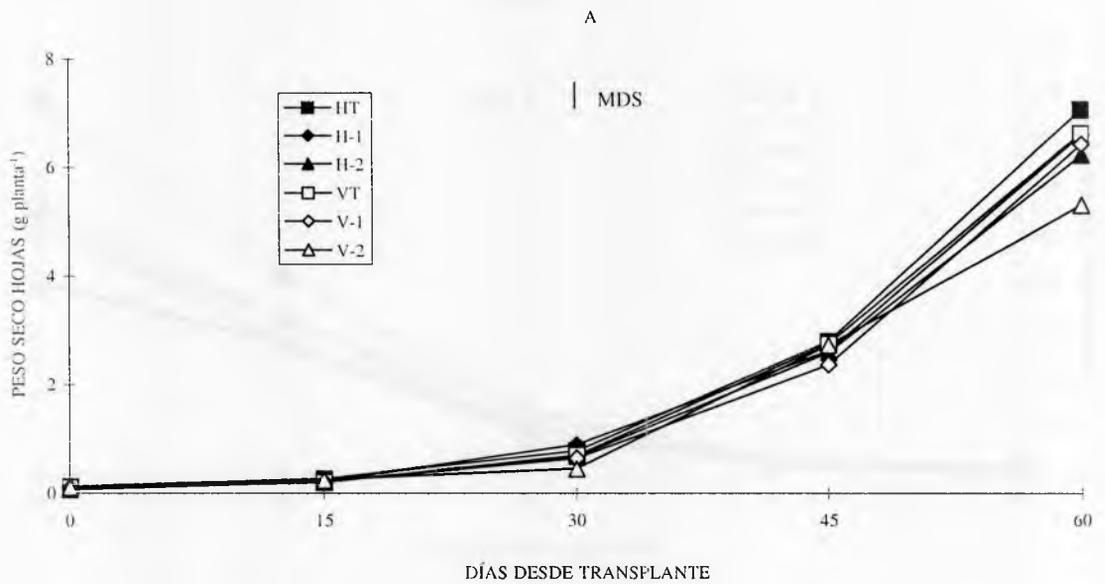


FIGURA 4. Cambios en el peso seco de las hojas (g planta^{-1}) para plantas de brócoli iniciadas a partir de semilla híbrida (II) o de una variedad de polinización abierta (V) con los cotiledones intactos (T) o eliminados (1-2) antes del transplante en dos fechas de siembra (A-B). Se indica el valor de la Mínima Diferencia Significativa ($p \leq 0.05$).

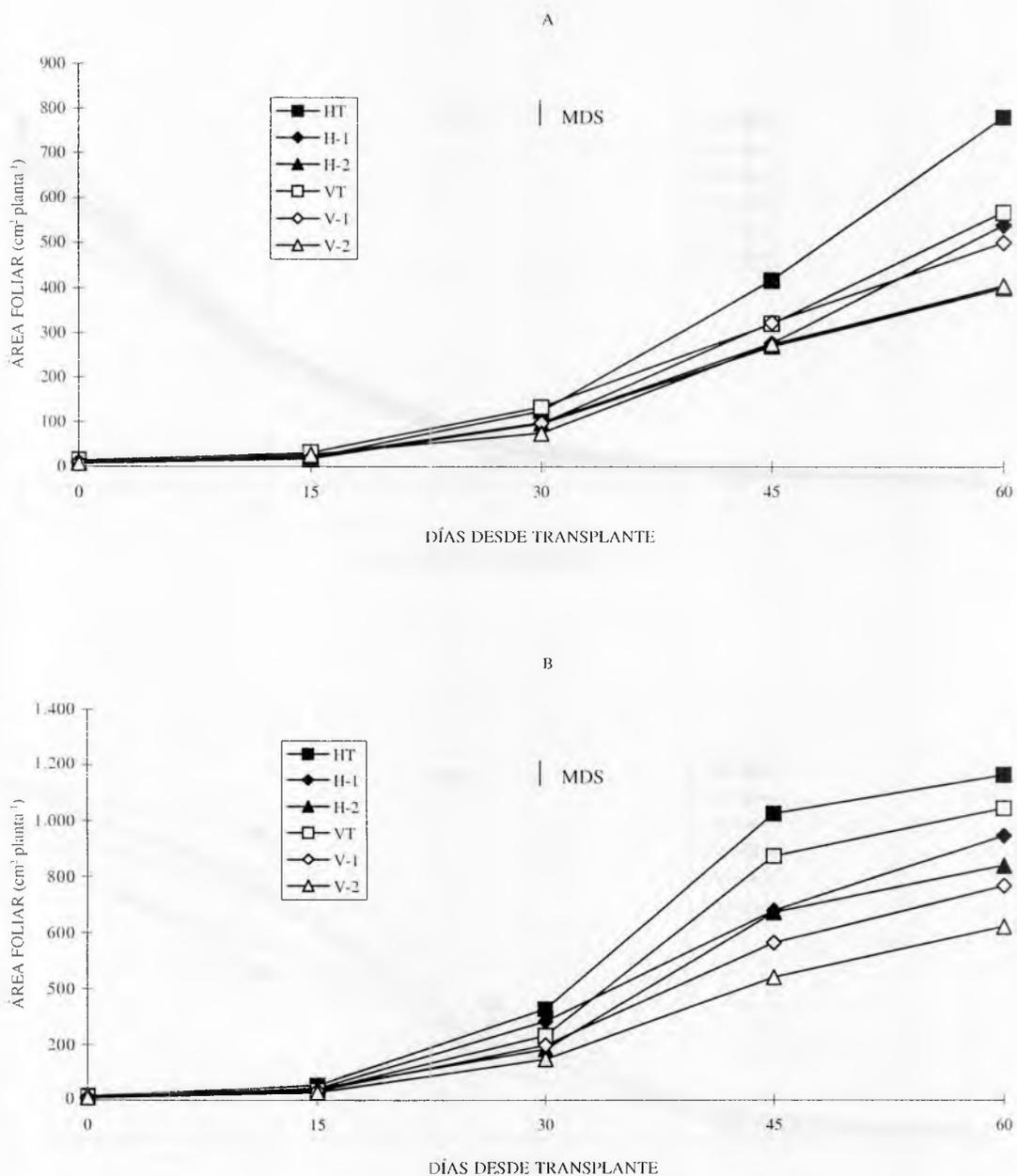


FIGURA 5. Cambios en biomasa total ($\text{cm}^2 \text{planta}^{-1}$) para plantas de brócoli iniciadas a partir de semilla híbrida (H) o de una variedad de polinización abierta (V) con los cotiledones intactos (T) o eliminados (1-2) antes del transplante en dos fechas de siembra (A-B). Se indica el valor de la Mínima Diferencia Significativa ($p \leq 0,05$).

CUADRO 2. Análisis de crecimiento: Tasa de crecimiento relativo (TCR), Tasa de asimilación neta (TAN) y Área foliar específica (AFE) a los 60 días del trasplante para plantas de brócoli iniciadas a partir de semilla híbrida (H) o de una variedad de polinización abierta (V) con los cotiledones intactos (T) o eliminados (1-2) antes del trasplante en dos fechas de siembra.

	TCR (día ⁻¹)	TAN (mg cm ⁻² día ⁻¹)	AFE (cm ² mg ⁻¹)
Primera Siembra			
H _T	0,0165 Aa	0,0788 Ac	0,209 Aa
H ₋₁	0,0165 Aa	0,0999 Ab	0,165 Bb
H ₋₂	0,0165 Aa	0,1225 Aa	0,134 Bb
V _T	0,0164 Aa	0,0728 Bb	0,225 Aa
V ₋₁	0,0165 Aa	0,0804 Bb	0,205 Aa
V ₋₂	0,0164 Aa	0,0951 Ba	0,172 Ab
Segunda Siembra			
H _T	0,0165 Aa	0,0414 Aa	0,400 Ba
H ₋₁	0,0165 Aa	0,0485 Aa	0,340 Ba
H ₋₂	0,0161 Aa	0,0421 Aa	0,382 Aa
V _T	0,0163 Aa	0,0308 Bb	0,528 Aa
V ₋₁	0,0163 Aa	0,0379 Ba	0,429 Ab
V ₋₂	0,0162 Aa	0,0385 Ba	0,422 Ab

Las letras mayúsculas al lado de cada valor indican diferencias significativas entre materiales genéticos (híbrido vs variedad) para cada fecha de siembra ($p \leq 0.05$). Las letras minúsculas indican diferencias significativas entre las plantas control y decotiledonizadas ($p \leq 0.05$).

La heterogeneidad de las plantas de brócoli en el momento del trasplante dificulta la programación de cosecha, especialmente cuando se mecaniza la misma para la industria del congelado y es una desventaja cuando se quiere programar una producción continua (Grevsen y Olesen, 1999). Se ha indicado que tanto la calidad como la productividad en brócoli dependen de la biomasa generada antes de la inducción floral (Grevsen, 1998). Para optimizar el proceso se ha propuesto la utilización de semilla de alta calidad, un sistema de multimaceta ('plug') para la germinación de la semilla y su crecimiento bajo condiciones controladas hasta el momento del trasplante. Los resultados indicarían que aunque las diferencias entre materiales genéticos son significativas, las mismas son difíciles de detectar visualmente y puede ser una de las razones por las

que la semilla híbrida (de mayor costo unitario) encuentra obstáculos para posicionarse en el mercado comercial. Este experimento finalizó antes de que las plantas florecieran debido a las limitaciones de espacio generados por el tamaño de los contenedores en los cuales se cultivaron las plantas y para evitar el efecto que el tamaño del contenedor tiene sobre el desarrollo aéreo del vegetal (Gornatti, 2004; Di Benedetto y Klasman, 2004); por esa razón no se pudo comprobar el impacto de los tratamientos sobre el rendimiento y la duración del ciclo hasta cosecha; sin embargo, datos no publicados (Di Benedetto, observación personal) indicarían diferencias importantes en este parámetro en cultivos comerciales brócoli localizados en el cinturón hortícola de la ciudad de Mar del Plata.

La industria de propagación de especies hortícolas ha promocionado el uso de semilla híbrida como una forma de establecer lotes de plantas homogéneos con altas tasas de crecimiento inicial. El incremento de los costos de propagación relacionados con la sustitución de variedades de polinización abierta por híbridos F_1 en brócoli se hallaría justificado por una mayor acumulación de peso seco (Fig. 1) bajo condiciones óptimas de crecimiento aún cuando por razones sanitarias o culturales los cotiledones desaparecieran tempranamente. De todos modos, como las posibilidades de controlar las altas temperaturas primavero-estivales están asociadas con el uso de sistemas pasivos (ventilación lateral-cenital, media sombra) las situaciones de estrés ambiental por temperaturas supraóptimas son comunes aún en los invernáculos destinados a la propagación intensiva (Cuadro 1). Esto reforzaría la necesidad del uso de semilla híbrida debido a la mayor expansión de biomasa aérea (Fig. 5B) y al impacto que la misma podría tener sobre la productividad final.

La función de los cotiledones es suministrar fotoasimilados a las hojas jóvenes que presentan un intercambio neto de carbono negativo tanto a través de la translocación de reservas como de productos generados por el proceso fotosintético. La capacidad para fotosintetizar es variable y depende de la especie considerada (Marshall y Koslowsky, 1974; Veierskov, 1985). En pepino, después de la emergencia, los cotiledones se expanden, sintetizan clorofila y fijan dióxido de carbono. Su capacidad fotosintética

juega un rol esencial durante las tres primeras semanas de crecimiento de la plántula (Mayoral *et al.*, 1985). Es posible que un mecanismo similar esté actuando en las plántulas de la variedad 'De Cicco' ya que el impacto de la eliminación de uno o dos de los cotiledones fue mayor en las plántulas híbridas durante la primera fecha de siembra (Figs. 1A y 5A; Cuadro 2). De todos modos, la falta de cotiledones asociado con un estrés de temperatura (supraóptimas) durante la segunda fecha de siembra afectó tanto a las semillas híbridas como a la variedad 'De Cicco' (Figs. 1B y 5B).

El rendimiento de un cultivo se halla determinado por la acumulación de peso seco y su distribución entre órganos cosechables y no cosechables. Se ha indicado que la cantidad de fotoasimilados producidos a través del proceso fotosintético depende del área foliar desarrollada hasta que se alcanza el índice de área foliar crítico (Marcelis *et al.*, 1998) y, en el caso del brócoli, de la temperatura (Tan *et al.*, 2000). Como las diferencias tempranas en la acumulación de biomasa aérea generalmente se amplifican durante las fases finales de crecimiento vegetativo previo a la inducción floral en brócoli (Fig. 5) la mayor capacidad fotosintética potencial generada por el uso de semilla híbrida podría justificar el reemplazo de las variedades de polinización abierta en el área de producción de la ciudad de Mar del Plata, sin embargo, esa conclusión requiere el desarrollo de ensayos a campo en los que se evalúe el impacto sobre el rendimiento comercial.

BIBLIOGRAFÍA

- ASHCROFT, W.J. and D.R. MURRAY (1979): The dual functions of the cotyledons of *Acacia iteaphylla* F. Muell. (Mimosoidae). *Australian Journal of Botany* 27: 343-352.
- BROWN, C.S. and S.C. HUBER (1987): Photosynthesis, reserve mobilization and enzymes of sucrose metabolism in soybean (*Glycine max*) cotyledons. *Physiologia Plantarum* 70: 537-543.
- DIBENEDETTO, A. and R. KLASMAN (2004). The effect of plug cell volume on the post-transplant growth for *Impatiens walleriana* pot plant. *European Journal of Horticultural Science* 69: 82-86.
- GORNATTI, T. (2004): Evaluación de la rutina de transplante para diferentes híbridos de maíz (*Zea mays* L.). Tesis de grado de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Ciencias Agrarias (UNMdP).

- GREVSEN, K. (1998): Effects of temperature on head growth of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*): Parameter estimates for a predictive model. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 73: 235-244.
- GREVSEN, K. and J.E. OLESEN (1999): Modelling development of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) from transplanting to head initiation. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 74: 698-705.
- HARRIS, M.; R.O MACKENDER and D.L. SMITH (1986): Photosynthesis of cotyledons of soybean seedlings. *New Phytologist* 104: 319-329.
- LOVELL, P.H. and K.G. MOORE (1971): A comparative study of the role of the cotyledons in seedling development. *Journal of Experimental Botany* 22: 153-162.
- MARCELIS, L.F.M.; E. HEUVELINK and J. GOUDRIAAN (1998): Modelling biomass production and yield of horticultural crops: a review. *Scientia Horticulturae* 74: 83-111.
- MARSHALL, P.E. and T.T. KOZLOWSKI (1974): Photosynthetic activity of cotyledons and foliage leaves of young angiosperms. *Canadian Journal of Botany* 52: 2023-2032.
- MARSHALL, P.E. and T.T. KOZLOWSKI (1975): Changes in mineral contents of cotyledons and young seedlings of woody angiosperms. *Canadian Journal of Botany* 53: 2026-2031.
- MARSHALL, P.E. and T.T. KOZLOWSKI (1976): Compositional changes in cotyledons of woody angiosperms. *Canadian Journal of Botany* 54: 2473-2477.
- MAYORAL; M.L.; Z. PLAUT and L. REINHOLD (1985): Effect of sink-source manipulations on the photosynthetic rate and carbohydrate content of cucumber cotyledons. *Journal of Experimental Botany* 36: 1551-1558.
- TAN, D.K.Y.; C.J. BIRCH; A.H. WEARING and K.G. RICKERT (2000): Predicting broccoli development. I. Development is predominantly determined by temperature rather than photoperiod. *Scientia Horticulturae* 84: 227-243.
- VIERSKOV, B. (1985): Pea seedling growth and development regulated by cotyledons and modified by irradiance. *Physiologia Plantarum* 65: 79-84.

