

## Éxito reproductivo de la colza (*Brassica napus* var. *oleifera*) en Buenos Aires, Argentina

NH MONTALDO, D MEDAN, GG ROITMAN, ANA C D'AMBROGIO Y ANITA I MANTESE

Cátedra de Botánica, Departamento de Ecología, Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires, Av. San Martín 4453, 1417 Buenos Aires, Argentina.

### RESUMEN

En dos cultivares comerciales de colza se estudió el éxito reproductivo preemergente y la influencia de los insectos sobre algunos de los componentes del rendimiento. Entre 1991 y 1993 se trabajó con la variedad Printol y el híbrido Iciola 41. Los frutos de ambos cultivares presentaron entre un 11 y 15 % de óvulos abortados. Iciola 41 produjo un número de óvulos ligeramente mayor y, en el nivel de flor, su éxito reproductivo pareció depender de la posición de la flor en la inflorescencia. En Printol el aborto combinado de flores y óvulos produjo una reducción del 34 al 47 % del potencial reproductivo. La cantidad y calidad del polen que arribó al estigma no constituyó un factor limitante para ello. En las condiciones locales, el acceso de insectos a las flores no influyó sobre la tasa de iniciación de semillas ni sobre la de maduración de frutos, ni tampoco en el peso de las semillas.

**Palabras clave.** *Brassica napus* var. *oleifera*, colza, Canola, éxito reproductivo, autopolinización.

## Reproductive success of oilseed rape (*Brassica napus* var. *oleifera*) in Buenos Aires, Argentina

### SUMMARY

Preemergent reproductive success and influence of insects on some yield components were studied in two oilseed rape commercial cultivars. The variety Printol and the hybrid Iciola 41 were used in the study between 1991 and 1993. Ovule abortion (11-15 %) occurred in both cultivars. Iciola 41 produced a slightly higher number of ovules and, at flower level, its reproductive success seemed to depend on the flower position in the inflorescence. In Printol, combined flower and ovule abortion reduced the reproductive potential in 34 to 47 %. Amount and quality of pollen arrived at the stigma did not limit fruit set. In local conditions, insect visitation to flowers did not influence fruit set and seed initiation rates, nor seed weight.

**Key words.** *Brassica napus* var. *oleifera*, oilseed rape, Canola, reproductive success, self-pollination.

Recibido el 8 de mayo de 1995. Aceptado el 6 de febrero de 1996.

## INTRODUCCIÓN

La colza es una oleaginosa cuyo cultivo, a nivel mundial, se ha incrementado considerablemente en años recientes. Para la Argentina existe aún escasa información sobre los componentes del rendimiento (Pascale *et al.*, 1992), requerimientos (Sarandón *et al.* 1993), y aspectos fisiológicos y ecológicos del cultivo.

En muchas plantas con flores el éxito reproductivo depende de distintos factores, entre ellos las interacciones con agentes bióticos polinizadores (Barrett y Eckert, 1990). Las flores de *Brassica napus* var. *oleifera* producen como recompensa néctar y polen y son muy atractivas para las abejas (Free, 1970; Mohr y Jay, 1988). Si bien la planta es autofértil, es necesario un agente externo para transferir suficiente polen hasta el estigma (Williams, 1985). El viento al agitar las flores contribuye a su autopolinización y también transporta polen por el cultivo, pero, aunque pueden obtenerse buenos rendimientos en ausencia de insectos, se desconoce si en dichas condiciones pueden obtenerse rendimientos máximos (Williams, 1985). Se ha determinado que el comportamiento reproductivo de la colza varía con la presencia de insectos (Williams *et al.*, 1987; Adegas y Nogueira Couto, 1992) y en Inglaterra se considera conveniente colocar colmenas en los cultivos para incrementar la polinización y el cuajado de semillas (Eisikowitch, 1981).

Los objetivos del presente estudio fueron: 1- Determinar cuál es el éxito reproductivo preemergente (Wiens *et al.*, 1987) de la colza en las condiciones locales, medido como el producto de las relaciones fruto/flor y semilla/óvulo. Esta medida de fecundidad indica la proporción de semillas producidas en relación a los óvulos inicialmente disponibles (Medan, 1993). 2- Comprobar si en ausencia de insectos arriba al estigma suficiente polen para fertilizar todos los óvulos. 3- Establecer si la acción de los insectos influye sobre las tasas de

iniciación de semillas y de fructificación (maduración de frutos), y en el peso de las semillas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y sitio del estudio: se trabajó con la variedad Printol (años 1991 a 1993) y el híbrido comercial Iciola 41 (1992 y 1993), en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (34° 37' S, 58° 20' W). En ambos materiales la inflorescencia se compone de un racimo principal (racimo terminal) y de racimos laterales. En 1991 se instaló una parcela de 60 m<sup>2</sup> sembrada a 0,25 m entre surcos, y a partir de 1992 se emplearon las parcelas de la Red de Ensayos Territoriales de Colza, de 6 m<sup>2</sup> y sembradas a 0,20 m entre surcos, conducidas por la Cátedra de Cultivos Industriales de la Facultad.

Determinación de la relación fruto/flor y del peso de semillas: en 1991, a fines de agosto se observaron los primeros botones florales. Al inicio de la floración se eligieron al azar 10 plantas de la parcela y se asignaron por mitades a dos tratamientos: a) eliminación de todas las flores abiertas, y b) eliminación de todas las flores abiertas y cobertura de la inflorescencia con tul de malla de 1 mm<sup>2</sup>. Con posterioridad en cada una de las 10 inflorescencias se contaron las flores que no fructificaron y los frutos iniciados y, a fines de noviembre, los frutos maduros. El porcentaje de maduración se calculó separadamente para el racimo principal y para la inflorescencia completa, y resultó de dividir el número de frutos maduros por la sumatoria de las flores y frutos abortados más frutos maduros. Se pesaron en conjunto todas las semillas de cada racimo.

Determinación de la relación semilla/óvulo: se realizó en 1992 en condiciones de polinización libre (Printol e Iciola 41) y de exclu-

sión de insectos (Printol). Catorce días después de la antesis -momento en que se encuentra definido el número de semillas por fruto (Pechan 1988)- se cosecharon 5 frutos del racimo principal de 10 individuos por tratamiento y se contaron las semillas iniciadas y las abortadas. En 1993 para estudiar la influencia de la posición del fruto sobre la relación semilla/óvulo se cosecharon 120 frutos, próximos a madurez, formados bajo polinización libre y a razón de dos por planta. La mitad estaban ubicados entre los nudos 1 y 10, y el resto entre los nudos 20 y 30 del racimo principal. Se registraron separadamente semillas llenas y óvulos abortados.

Cuantificación del polen presente sobre el estigma y determinación de su fertilidad: en 1992, en 20 plantas de Printol (10 de polinización libre y 10 cubiertas con tul) y 10 de Iciola 41 (polinización libre) se extrajo el estilo de 2 flores del racimo principal en su segundo día de antesis. Bajo un estereoscopio, los estilos se hicieron rodar sobre un portaobjetos provisto con cinta adhesiva doble faz hasta que los estigmas dejaron de liberar polen. El recuento se suspendió al llegar a 100 granos por estigma, lo que equivale a más del triple del número de óvulos por ovario (Bouttier y Morgan 1992). En una submuestra de 12 individuos (5 de cada tratamiento de Printol y 2 de Iciola 41) se contó el total de los granos. La fertilidad del polen se determinó en 1 flor recién abierta del racimo principal para 10 ejemplares de Printol y 10 de Iciola 41. Se procuró extraer todo el polen de la flor sobre un portaobjeto seco. Se usó la técnica fluorocromática de Greissl (1989) y se contaron los granos viables y no viables en 10 campos microscópicos de 4,95 mm<sup>2</sup> (objetivo 10x), y se calculó el porcentaje de granos viables. En 1993 se evaluaron simultáneamente la viabilidad y la germinabilidad en 4 individuos por cultivar. Los granos de polen de cada flor se sembraron en sacarosa al 20% p:v con 0,018% de ácido bórico, se incubaron 12 h a 20 °C, y se observaron con

microscopio de fluorescencia luego de agregar al medio diacetato de fluoresceína 5% p:v en acetona. Se contaron 10 campos microscópicos de 1,21 mm<sup>2</sup> (objetivo 20x) asignando los granos a las siguientes categorías (Triboi-Blondel *et al* 1991): a) germinado, b) no germinado pero viable, y c) no viable.

*Tratamiento estadístico.* Se usó el sistema estadístico Biostat (Paton 1987), sometiendo los porcentajes a la transformación angular antes de su análisis (Sokal y Rohlf, 1969).

## RESULTADOS

*Relación fruto-flor y peso de semillas.* Si bien las plantas cubiertas superaron a los testigos en el porcentaje de maduración de frutos (Tabla 1), la diferencia no fue significativa ni en la inflorescencia completa (Test de Student,  $t_0 = 1,81$ ,  $P > 0,05$ ) ni en el racimo terminal ( $t_0 = 1,53$ ,  $P > 0,05$ ).

**Tabla 1.** Porcentaje de maduración de frutos en la variedad Printol.

*Fruit set percentage for var. Printol.*

	Inflorescencia	Racimo terminal
Plantas sin cubrir	61,32 ± 8,59	60,82 ± 14,42
Plantas cubiertas	74,08 ± 12,15	74,34 ± 12,18

*Media ± desviación estándar.*

*Mean ± s.d.*

En el caso del peso de semillas el resultado fue inverso (Tabla 2), pero tampoco hubo diferencias significativas ni para el racimo terminal ( $t_0 = 0,48$ ,  $P > 0,05$ ) ni para el subbasal ( $t_0 = 0,87$ ,  $P > 0,05$ ).

*Relación semilla-óvulo y éxito reproductivo.* El número medio de óvulos por ovario

**Tabla 2.** Peso de semillas (g) en la variedad Printol.  
*Seed weight (g) for var. Printol.*

	Racimo subbasal	Racimo terminal
Plantas sin cubrir	0,95 ± 0,62	1,19 ± 0,40
Plantas cubiertas	0,68 ± 0,31	1,07 ± 0,36

Media ± desviación estándar.

Mean ± s.d.

fue mayor en las plantas de Iciola que en las de Printol (24,6 versus 23,2; Test U de Mann-Whitney,  $U_{10-20} = 14,5$ ,  $P < 0,01$ ). Entre el 85 y el 89 % de los óvulos produjeron semillas (Tabla 3), sin variaciones significativas entre los cultivares ensayados ni (en el caso de Printol) debidas a presencia o ausencia de insectos (ANOVA,  $F_{2-27} = 0,41$ ,  $P > 0,05$ ).

**Tabla 3.** Porcentaje de óvulos que produjeron semillas en frutos del racimo principal.

*Seed set percentage in main raceme fruits.*

Plantas sin cubrir (Printol)	86,34 ± 17,34
Plantas cubiertas (Printol)	89,17 ± 5,03
Plantas sin cubrir (Iciola)	85,13 ± 7,25

Media ± desviación estándar.

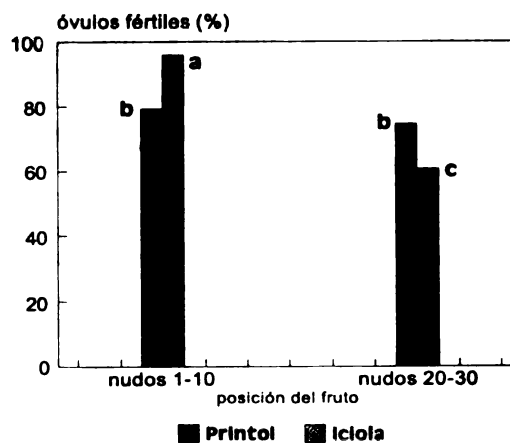
Mean ± s.d.

Como una medida de fecundidad (éxito reproductivo materno) y teniendo en cuenta los porcentajes de maduración de frutos (Tabla 1) y de llenado de semillas (Tabla 3), en la variedad Printol entre el 53 y el 66 % de los óvulos inicialmente disponibles produjeron una semilla madura. Si bien para Iciola no se dispone de una medida del primero de ambos componentes, el nivel de aborto ovular fue semejante al de Printol (Tabla 3).

*Variación de la relación semilla-óvulo den-*

*tro de la inflorescencia.* El número de óvulos por ovario en la variedad Printol fue de 23, tanto en el tercio inferior cuanto en el superior del racimo principal. En Iciola dichos valores fueron de 25 y 24, respectivamente. Con respecto a la fertilidad de esos óvulos (Tabla 4), un ANOVA de dos factores reveló existencia de interacción ( $F_{1-236} = 43,79$ ,  $P < 0,01$ ), por lo cual el efecto de la posición del fruto sobre la fertilidad dependió del cultivar (Fig. 1). En Printol no existieron diferencias significativas entre ambos sectores del racimo (Test de Tukey,  $q = 2,95$ ,  $P > 0,05$ ), pero sí las hubo en Iciola ( $q = 23,65$ ,  $P < 0,01$ ). Además, hubo diferencias entre cultivares en el porcentaje de óvulos fértiles de un mismo sector de la inflorescencia (sector 1-10,  $q = 12,84$ ; sector 20-30,  $q = 7,85$ ,  $P < 0,01$ ).

*Dotación de polen.* Las flores presentaron más de 100 granos de polen sobre el estigma, exceptuando una flor cubierta de la variedad Printol, en la que se contaron 91 granos. En una submuestra, el número total de granos depositados en el estigma superó ampliamente dicha cantidad (Tabla 5) y no



**Figura 1.** Efecto de la posición del fruto sobre la fertilidad del óvulo. Las barras señaladas con la misma letra no difieren significativamente ( $P > 0,05$ ).

*Effect of fruit position on ovule fertility. Values marked with same letter do not significantly differ ( $P > 0,05$ ).*



**Tabla 4.** Porcentaje de óvulos que produjeron semillas en frutos de distintos sectores del racimo principal.

Seed set percentage in fruits of different sectors of main raceme.

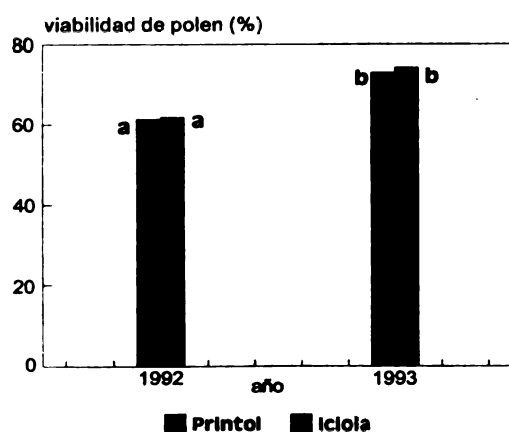
	Nudos 1-10	Nudos 20-30
Printol	79,18 ± 18,41	74,63 ± 16,28
Iciola	95,84 ± 5,70	60,38 ± 31,66

Media ± desviación estándar.

Mean ± s.d.

hubo diferencias significativas entre los tratamientos ensayados en Printol, ni entre los cultivares (ANOVA de Kruskal-Wallis,  $H_{c2} = 1,21$ ,  $P > 0,05$ ).

**Fertilidad del polen:** no existieron diferencias significativas entre cultivares en cuanto a la viabilidad del polen, pero sí las hubo entre años para cada cultivar (ANOVA de dos factores,  $F_{1,38} = 0,00$ ,  $P > 0,05$  y  $F_{1,38} = 16,58$ ,  $P < 0,01$ , respectivamente) (Fig. 2). En 1992



**Figura 2.** Efecto del año sobre la viabilidad del polen. Los valores señalados con la misma letra no difieren significativamente ( $P > 0,05$ ).

Effect of year on pollen viability. Values marked with same letters do not significantly differ ( $P > 0,05$ ).

**Tabla 5.** Número total de granos de polen sobre el estigma.

Number of pollen grains on stigma.

Flores sin cubrir (Printol)	758,7 ± 332,98 (262 - 1354)
Flores cubiertas (Printol)	694,1 ± 477,95 (91 - 1503)
Flores sin cubrir (Iciola)	872,75 ± 324,43 (544 - 1318)

Media ± desviación estándar y rango.

Mean ± s.d. (range).

la viabilidad porcentual del polen de Iciola fue de  $61,66 \pm 5,75$  (media ± desviación estándar), y en Printol de  $61,16 \pm 8,04$ . En 1993 la viabilidad media (granos germinados más granos intactos, Tabla 6) fue superior en ambos cultivares, con valores del 74,08 y 72,82 %; no obstante, la prueba de germinación "in vitro" arrojó valores sensiblemente inferiores a los de viabilidad (Tabla 6), sin diferencias significativas entre cultivares (Test de Student,  $t_0 = 1,57$ ,  $P > 0,05$ ).

**Tabla 6.** Análisis de germinabilidad del polen (ensayo de 1993).

Analysis of pollen germinability (1993).

	granos germinados	granos intactos	granos muertos
Printol	28,10 ± 10,84	44,71 ± 10,04	27,16 ± 5,28
Iciola	38,10 ± 7,21	35,98 ± 6,90	25,91 ± 1,42

Media ± desviación estándar.

Mean ± s.d.

## DISCUSIÓN

Los resultados sugieren que, en el nivel de flor, en Iciola 41 existe una mayor dependencia del éxito reproductivo con respecto a

la posición de la flor en la inflorescencia. Debido a que la apertura de las flores en la inflorescencia de colza procede en sentido acrópeto y a que ambos cultivares estudiados no florecen en forma sincrónica, no puede descartarse que dicho éxito diferencial se deba a variaciones en las condiciones nutricionales y/o ambientales experimentadas por las plantas a lo largo de la floración (Lardon y Triboi-Blondel, 1994; Bouttier, 1990, citado por Bouttier y Morgan, 1992).

En ambos materiales experimentales ensayados la calidad del polen no constituyó un factor limitante del rendimiento, ya que su germinabilidad "in vitro" resultó suficiente. Por lo tanto y teniendo en cuenta que, en general, los estigmas reciben mucho más de 100 granos de polen, aunque ocurrieran valores de germinación "in vivo" semejantes a los observados en el laboratorio, se producirían suficientes tubos polínicos para fertilizar todos los óvulos. Pechan (1983) y Ancha (1988) (citados por Bouttier y Morgan, 1992) también descartaron la posibilidad de que la esterilidad del polen sea causa del bajo cuajado de semillas. En cambio, es probable que el estado del gametófito femenino en el momento de antesis (saco embrionario ausente o incompletamente desarrollado) (Bouttier y Morgan, 1992) explique el diseño de aborto ovular observado en cada cultivar.

En las condiciones locales, con o sin cobertura de la inflorescencia arribó al estigma suficiente polen viable. El acceso de insectos a las flores no influyó significativamente sobre la tasa de iniciación de semillas ni sobre la de maduración de frutos, ni afectó el peso de las semillas. Esto contrasta con resultados de otros estudios (Williams *et al.*, 1987; Adegas y Nogueira Couto, 1992) en los cuales se observó que, aunque sin modificar el rendimiento final (Williams *et al.*, 1987), algunas de dichas variables pueden ser alteradas por las visitas de insectos.

## CONCLUSIÓN

Se comprobó que en los cultivares Printol e Iciola 41 hay una fracción considerable del éxito reproductivo potencial que no se realiza, hecho no atribuible ni a la cantidad ni a la calidad del polen que arriba al estigma. Los resultados obtenidos apoyan la noción de que las visitas de insectos (en especial abejas) no aumentan los rendimientos de la colza (Williams, 1985).

## AGRADECIMIENTOS

J J Valla realizó la lectura crítica del manuscrito y dos revisores anónimos proporcionaron útiles sugerencias sobre el mismo. Alicia N Hirschhorn colaboró en el procesamiento del material. El presente estudio fue financiado con un subsidio de la Universidad de Buenos Aires (UBA-CyT, programación 1991-93).

## BIBLIOGRAFÍA

- Adegas JEB and RH Nogueira Couto (1992)** Entomophilous pollination in rape (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) in Brazil. *Apidologie* 23: 203-209.
- Ancha S (1988)** Analysis of factors influencing pod and seed development in oilseed rape (*Brassica napus* L.). PhD Thesis, University of Cambridge.
- Barrett SC and CG Eckert (1990)** Current issues in plant reproductive ecology. *Israel Journal of Botany* 39: 5-12.
- Bouttier C (1990)** Pod and seed development in oilseed rape (*Brassica napus* L.). PhD Thesis, University of Cambridge.
- Bouttier C and DG Morgan (1992)** Ovule development and determination of seed number per pod in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Journal of Experimental Botany* 43: 709-714.
- Eisikowitch D (1981)** Some aspects of pollination of oil-seed rape *Brassica napus* L.). *Journal of*

- Agricultural Sciences (Cambridge) 96:321-326.
- Free JB** (1970) Insect pollination of crops. Academic Press Inc., London and New York, 544 pp.
- Greissl R** (1989) Vitality analysis of monadic and polyadic pollen grains using optical contrast-fluorescence microscopy. Scientific and Technical Information 9: 180-184.
- Lardon A and AM Tribol-Blondel** (1994) Freezing injury to ovules, pollen and seeds in winter rape. Journal of Experimental Botany 45: 1177-1181.
- Medan D** (1993) Breeding system and maternal success of a perennial hermaphrodite, *Discaria americana* (Rhamnaceae). New Zealand Journal of Botany 31: 175-184.
- Mohr NA and SC Jay** (1988) Nectar -and pollen-collecting behaviour of honeybees on canola (*Brassica campestris* L. and *Brassica napus* L.). Journal of Apicultural Research 27: 131-136.
- Pascale NC, P Vilarifo, N Gómez, L Windauer y S Delfino** (1992) Componentes del rendimiento en colzas "doble cero" de primavera (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera* (Metz) Sinsk f. *annua*). Revista Facultad de Agronomía, Buenos Aires 13: 177-186.
- Paton S** (1987) Biostat 300. Panama City, Paton Creative Software.
- Pechan PM** (1983) Developmental physiology of oilseed rape with particular reference to pod and seed development. PhD Thesis, University of Cambridge.
- Pechan PM** (1988) Ovule fertilization and seed number per pod determination in oil seed rape (*Brassica napus*). Annals of Botany (London) 61: 201-207.
- Sarandón SJ, A Chamorro, R Bezus y MC Gianibelli** (1993) Respuestas de la colza (*Brassica napus* L. var. *oleifera*) a la fertilización nitrogenada. Efecto sobre la producción de biomasa, rendimiento de semilla y sus componentes. Revista Facultad de Agronomía, La Plata 69: 63-67.
- Sokal RR and FJ Rohlf** (1969) Biometry. The principles and practice of statistics in biological research. WH Freeman & Co., San Francisco. 776 pp.
- Tribol-Blondel AM, M Castaño-Colabelli and A Merrien** (1991) Germinability and viability of rapeseed pollen under the effect of temperature. Proceedings of 8th International Rapeseed Congress, Saskatoon, Canada.
- Wiens D, CL Calvin, CA Wilson, CI Davern, D Frank and SR Seavey** (1987) Reproductive success, spontaneous embryo abortion, and genetic load in flowering plants. Oecologia 71: 501-509.
- Williams IH** (1985) The pollination of swede rape (*Brassica napus* L.). Bee World 66: 17-22.
- Williams IH, AP Martin and RP White** (1987) The effect of insect pollination on plant development and seed production in winter oil-seed rape (*Brassica napus* L.). Journal of Agricultural Sciences (Cambridge) 109: 135-139.