



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Efectos maternos y su importancia sobre el *fitness* de las plantas en condiciones naturales

Tesis presentada para optar al título de Doctora de la Universidad de Buenos Aires
en el área de Ciencias Biológicas

Lic. Ailén Authier

Director de tesis: Dra. Gabriela Auge

Consejero de Estudios: Dr. Jorge Muschietti

Lugar de trabajo: Instituto de Agrobiotecnología Molecular (IABiMo, INTA-Castelar)

Buenos Aires, 30 de octubre de 2025

To any wild plant the environment represents a continual maze that must be successfully navigated.

Trewavas, 2003

Me pregunto si lo que veo y creo comprender acerca de la naturaleza no será tan solo uno de los accidentes de la libertad que la casualidad repite ante mis ojos, o si tiene algún equivalente en los mundos que existen más allá de Tinker Creek. Encuentro en la mecánica cuántica un mundo simbólicamente similar a mi mundo aquí.

Annie Dillard, *Una temporada en Tinker Creek*

ÍNDICE

RESUMEN GENERAL	7
ABSTRACT	8
AGRADECIMIENTOS	9
INTRODUCCIÓN GENERAL	10
<i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> COMO MODELO DE ESTUDIO: ESTRATEGIAS ECOLÓGICAS Y ADAPTATIVAS.....	11
CICLOS DE VIDA Y AMBIENTE	12
INTEGRACIÓN DE LA INFORMACIÓN AMBIENTAL A TRAVÉS DE Y ENTRE CICLOS DE VIDA	13
RESPUESTA A LA COMBINACIÓN DE AMBIENTES	13
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	16
METODOLOGÍA GENERAL	17
MATERIAL VEGETAL	18
DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	18
CONDICIONES DE CRECIMIENTO EN LABORATORIO	22
<i>G0</i> y <i>G1</i>	22
<i>G2</i>	23
TRATAMIENTO CON 5-AZACITIDINA	24
EXPERIMENTOS EN CONDICIONES NATURALES	25
<i>Primer año</i>	25
<i>Segundo año</i>	26
<i>Tercer año</i>	27
CAPÍTULO I: GERMINACIÓN, EMERGENCIA Y EFECTOS MATERNOS – UNA COMPARACIÓN ENTRE CONDICIONES CONTROLADAS Y NATURALES	28
RESUMEN	30
INTRODUCCIÓN	31
<i>EFFECTOS MATERNOS EN LA DORMICIÓN</i>	31
<i>PLASTICIDAD INTRAGENERACIONAL</i>	32
MATERIALES Y MÉTODOS	34
ENSAYOS DE GERMINACIÓN.....	34
PROPORCIÓN DE GERMINACIÓN	34
ENSAYOS DE EMERGENCIA.....	34
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	34
<i>Germinación</i>	34
<i>Tamaño y dirección del efecto materno</i>	35
<i>Emergencia</i>	35
RESULTADOS	37
GERMINACIÓN, Y EMERGENCIA EN RESPUESTA A LOS EFECTOS MATERNOS	37
<i>Germinación en condiciones controladas</i>	37
<i>Interacción entre variación genética y efectos maternos en la respuesta de germinación en condiciones controladas</i>	37
<i>Primer año</i>	37
<i>Segundo año</i>	39
<i>Tercer año</i>	42

LOS EFECTOS TRANSGENERACIONALES DEPENDEN DE LA COMBINACIÓN DE AMBIENTES Y DEL ECOTIPO	44
EFFECTOS MATERNOS SOBRE LA EMERGENCIA DE PLÁNTULAS EN CONDICIONES NATURALES	46
Primer año	46
Segundo año	48
<i>Tercer año: interacción entre efectos maternos de temperatura y la homeostasis de metilación del ADN</i>	51
DISCUSIÓN	54
<i>CONTRASTES DE RESPUESTAS EN CONDICIONES CONTROLADAS Y DE CAMPO</i>	54
<i>COMBINACIÓN DE ALELOS FRI Y FLC, Y RELACIÓN CON OTROS GENES DE DORMICIÓN, SOBRE EFECTOS TRANSGENERACIONALES</i>	56
<i>EL AMBIENTE MÁS INMEDIATO ES DETERMINANTE EN LA RESPUESTA (CONDICIONES CONTROLADAS Y EN CAMPO)</i>	57
<i>REGULACIÓN DE LA GERMINACIÓN Y DORMICIÓN DE LA PROGENIE A TRAVÉS DE LA METILACIÓN DEL ADN</i>	58
CONCLUSIONES	60
CAPÍTULO II: EL EFECTO A LARGO PLAZO DEL AMBIENTE MATERNO SOBRE EL TIEMPO A FLORACIÓN Y LA SUPERVIVENCIA	61
RESUMEN	63
INTRODUCCIÓN	64
<i>LA FLORACIÓN COMO CARACTER ADAPTATIVO</i>	64
<i>SOBREVIVIR A LAS DIFERENTES ETAPAS FENOLÓGICAS</i>	65
MATERIALES Y MÉTODOS	67
FLORACIÓN	67
SUPERVIVENCIA	67
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	67
<i>Floración</i>	67
<i>Supervivencia</i>	67
RESULTADOS: TIEMPO A FLORACIÓN Y SUPERVIVENCIA	68
EL TIEMPO A FLORACIÓN DE LA PROGENIE RESPONDE AL AMBIENTE MATERNO	68
<i>Efectos maternos en condiciones controladas influyen en el tiempo a floración de la progenie</i>	68
<i>Tiempo a floración en condiciones naturales – Primer ensayo de campo</i>	69
<i>Tiempo a floración en condiciones naturales – Segundo ensayo, otro ambiente</i>	70
<i>Efectos maternos combinados y tiempo a floración de la progenie – Tercer año</i>	72
SUPERVIVENCIA	73
Primer año	73
Segundo año	74
Tercer año	76
DISCUSIÓN	78
<i>EFFECTOS MATERNOS SOBRE LA ESTRATEGIA REPRODUCTIVA</i>	78
<i>LA INFLUENCIA DE LOS EFECTOS MATERNOS SOBRE LA SUPERVIVENCIA A CAMPO</i>	79
<i>INFLUENCIA DE LA METILACIÓN DEL ADN SOBRE LA FLORACIÓN Y LA SUPERVIVENCIA DE LA PROGENIE</i>	80
CONCLUSIONES	81
CAPÍTULO III: CARACTERES RELACIONADOS AL FITNESS	82
RESUMEN	84
INTRODUCCIÓN	85

<i>CARACTERES RELACIONADOS A LA APTITUD</i>	85
MATERIALES Y MÉTODOS	87
CARACTERES FENOLÓGICOS.....	87
<i>Diámetro de Roseta</i>	87
<i>Área Foliar</i>	87
<i>Biomasa Reproductiva</i>	87
<i>Peso de Semillas</i>	87
<i>Área de Semillas</i>	87
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	88
<i>Diámetro de roseta, área foliar, biomasa reproductiva, peso de semillas y área de semillas</i>	88
<i>Multivariados</i>	88
RESULTADOS CAPÍTULO III: CARACTERES RELACIONADOS A LA APTITUD	90
LOS EFECTOS MATERNOS INFLUYEN EN CARACTERES RELACIONADOS A LA APTITUD EN LA PROGENIE	90
<i>Acumulación de recursos de la primera generación: área y diámetro foliar</i>	90
<i>Capacidad reproductiva en respuesta al ambiente de la primera generación: Peso y área de semillas de la segunda generación</i>	91
<i>Efecto de la combinación de ambientes a través de las generaciones: Diámetro y área foliar, y peso y área de semillas de las segunda y tercera generaciones</i>	92
<i>Interacción entre el ambiente de temperatura y la inducción de cambios en la metilación del ADN: Diámetro y área foliar de la primera generación</i>	95
<i>Capacidad reproductiva en respuesta a la combinación de ambientes de temperatura y Azacitidina: Peso y área de semillas de la segunda generación</i>	96
CARACTERES FENOLÓGICOS EN CONDICIONES HETEROGÉNEAS: BIOMASA AÉREA, DIÁMETRO Y ÁREA FOLIAR EN EL CAMPO, SEGUNDO Y TERCER ENSAYO DE CAMPO	97
<i>Segundo año</i>	97
<i>Tercer año</i>	100
PATRONES, ASOCIACIONES Y CONTRIBUCIÓN RELATIVA DE LAS VARIABLES: ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES	102
<i>Primer año</i>	102
<i>Segundo año</i>	103
<i>Tercer año</i>	106
DISCUSIÓN	108
<i>INFLUENCIA DEL AMBIENTE MATERNO SOBRE EL DESARROLLO VEGETATIVO</i>	108
<i>COMPROMISOS ENTRE CRECIMIENTO Y REPRODUCCIÓN</i>	108
<i>VARIACIÓN EN LA ESTRATEGIA REPRODUCTIVA: CANTIDAD VS CALIDAD</i>	109
<i>PERSISTENCIA DE LOS EFECTOS MATERNOS EN GENERACIONES SUCESIVAS</i>	109
<i>ESTRATEGIAS FUNCIONALES EN CONDICIONES DE CAMPO</i>	109
CONCLUSIONES	111
DISCUSIÓN GENERAL	112
<i>COMPARACIÓN ENTRE CONDICIONES CONTROLADAS VS CAMPO</i>	113
<i>EXPRESIÓN DE LOS EFECTOS A TRAVÉS DE LAS GENERACIONES EN CONDICIONES NATURALES</i>	113
<i>CAMBIOS EN LA HOMEOSTASIS DE METILACIÓN DEL ADN PUEDEN CAMBIAR LA PERCEPCIÓN Y/O LA RESPUESTA DE LAS SEMILLAS</i>	115
<i>CAMBIOS EN EL AMBIENTE MATERNO Y CONSECUENCIAS SOBRE EL FITNESS</i>	116

CONCLUSIÓN GENERAL.....	118
BIBLIOGRAFÍA.....	119
INFORMACIÓN SUPLEMENTARIA – CAPÍTULO I	127
INFORMACIÓN SUPLEMENTARIA – CAPÍTULO II	139
INFORMACIÓN SUPLEMENTARIA – CAPÍTULO III.....	150

Resumen general

Las plantas poseen la capacidad de percibir su entorno y transmitir esa información a la siguiente generación. Sin embargo, gran parte de la investigación en el área se lleva a cabo en condiciones de laboratorio controladas, lo que impide la extrapolación de los resultados a condiciones naturales. El objetivo principal de este trabajo fue el de entender los efectos maternos y su importancia sobre el *fitness* de las plantas en condiciones naturales, comparando respuestas en laboratorio y campo. Para desarrollar el trabajo, se utilizó la planta *Arabidopsis thaliana* teniendo en cuenta los recursos disponibles para estudiar la influencia de la variación genética y su interacción con los efectos maternos, utilizando caracteres fenológicos como la germinación, la floración y caracteres relacionados al *fitness* como indicadores de efecto. Es una especie de ciclo de vida corto y gran producción de semillas, presenta memoria ambiental, donde las condiciones experimentadas por la planta madre afectan el desarrollo de la progenie. Se realizaron ensayos de campo en múltiples años para estudiar el comportamiento de los ecotipos en un ambiente novedoso, comparando la respuesta de la progenie con experimentos realizados en condiciones controladas. Se utilizó el tratamiento de vernalización de la planta madre como variable explicatoria para investigar el efecto de la temperatura en la respuesta de la progenie en diferentes estadios del ciclo de vida, siendo germinación, floración y producción de semillas, algunas de las variables respuesta analizadas.

Los resultados obtenidos muestran que los efectos maternos pueden observarse en la naturaleza sobre diferentes caracteres fenológicos y de *fitness*, sin embargo, dependen en parte de la expresión de la variación genética. Además, la homeostasis de metilación del ADN está involucrada en el pasaje de información materna a la progenie, al borrar las marcas epigénéticas no se encontraron efectos maternos asociados a la temperatura.

En el campo, los ecotipos expresaron diferentes estrategias ecológicas. Algunos de ellos mostraron estrategias adquisitivas, donde la floración es rápida, mientras que otros mostraron estrategias conservativas, donde se favoreció la acumulación de biomasa aérea y la floración tardía.

En conclusión, esta tesis muestra que los efectos maternos adquieren importancia en un ambiente novedoso en estadios tempranos del desarrollo como la emergencia y que influyen en la supervivencia de la progenie de forma diferencial. Sin embargo, el efecto del ecotipo es el que determina la respuesta evidenciando que la plasticidad transgeneracional depende no sólo del acervo génico y del ambiente anterior sino también de la respuesta del individuo frente a un ambiente heterogéneo.

Abstract

Maternal effects and their importance on plant fitness under natural conditions

Plants have the remarkable ability to perceive their environment and pass this information on to the next generation. However, much of the research in this field is conducted under controlled laboratory conditions, which makes it difficult to extrapolate the findings to natural settings. The main objective of this thesis was to understand the importance of maternal effects on plant fitness in natural conditions, by comparing responses in both laboratory and field environments.

To conduct this study, the plant *Arabidopsis thaliana* was used, taking advantage of its well-known genetic resources to examine the interplay between genetic variation and maternal effects. Phenological traits like germination and flowering, as well as fitness-related traits, were used as response variables. This species, known for its short life cycle and high seed production, exhibits environmental memory, where the conditions a mother plant experiences influence the development of her offspring.

We performed field trials over multiple years to study how different ecotypes of this species respond in a novel environment. The results were then compared to those from controlled laboratory experiments. We used vernalization of the mother plant as an explanatory variable to investigate how temperature affects the progeny's response at different life stages, with germination, flowering, and seed production being some of the key response variables analyzed.

The results of this thesis demonstrate that maternal effects can be observed in nature, influencing various phenological and fitness traits. However, their expression is partly dependent on underlying genetic variation. Furthermore, DNA methylation homeostasis appears to be crucial for the transmission of maternal information to the offspring; when epigenetic marks were erased, no temperature-associated maternal effects were observed.

In the field, the ecotypes expressed different ecological strategies. Some showed acquisitive strategies, characterized by rapid flowering, while others adopted conservative strategies, favoring the accumulation of above-ground biomass and delayed flowering.

In conclusion, this thesis shows that maternal effects become significant in a novel environment, especially during early developmental stages like emergence, and they differentially influence the survival of the progeny. Ultimately, however, it is the ecotype's genetic makeup that determines the response. This highlights that transgenerational plasticity depends not only on the genetic background and the previous environmental conditions but also on the individual's response to a heterogeneous environment.

Agradecimientos

Esta tesis no hubiera sido posible sin la compañía ni el apoyo de una red maravillosa de personas, circunstancias y lugares que me hicieron lo que soy. A ese conjunto, mi mayor agradecimiento. Para todos, todo.

Para empezar, gracias a Gabi por bancarme en todas hace ya 8 largos años de camino compartido, que decirte que no sepas ya, gracias por las charlas sobre ciencia y no ciencia, por preparar el campo conmigo codo a codo y por abrirme las puertas al mundo científico, sin vos definitivamente no hubiera llegado hasta acá. Gracias por todo.

Gracias al iB3 y al IABIMO, por recibirme con calidez y por albergar grupos humanos de gran excelencia académica y social.

Gracias en particular a Cami y a Clari, amigas queridas: la música, los congresos, las confesiones, catarsis de todo tipo, en fin, team rulos, las amo.

Gracias a Gustavo y a Nora, pero especialmente a Nora por darme luz y claridad en momentos de confusión, por valorar mi trabajo e incentivarme a escribir esta tesis.

Gracias a Raúl por los libros y las playlists, los viajes en chárter y los mates matutinos, Gracias a Laura R. por los abrazos y las palabras de aliento en momentos difíciles. Gracias a Oscar (y a Nati) por llevarme y traerme miles de veces, por las charlas filosóficas, por escucharme, por las risas y las anécdotas.

Gracias a quienes me ayudaron durante los ensayos de campo: Sofi, Tomi, Ana, Cruz, Matias, Nacho, Agus, Valen y también Nico, Clari, Cami, Gabi sobre todo. Los ensayos de campo no hubieran sido posibles sin ustedes.

Gracias a la universidad pública, gratuita y de calidad, a mi querida FCEN, por formarme como científica y permitirme estudiar y trabajar.

Quiero agradecer también a mis amigos entrañables de la facultad, esa banda de gente espectacular que es la chancha: Fede, Lau, Feli, Momo, Gabi, Lulo, Sofi, Flor, Vale, Viole, Juan y Marian. Gracias por las palabras de aliento, por la contención, por el amor.

A Julián y Karen, por bajarme a tierra en más de una ocasión.

Gracias a Camilo, por tu música y por 'Carreras'.

Gracias a Keimson, sos magia amiga.

Gracias a Cande y a Maga, que me bancan la cabeza hace ya casi 20 años.

A las ojotas verdes, amigas de toda la vida, gracias por estar ahí siempre.

Gracias a mis hermanas y a mis viejes, porque mi amor por las plantas es resultado del ambiente en el que fui criada, por estar ahí en cada momento de mi vida y abrazarme con palabras y con el cuerpo cada vez que fue necesario. Gracias al resto de mi familia: a mis abuelos, a mi tío y a mis tías, primo y primas y perdón por ausentarme tantas veces, prometo de ahora en más estar más presente.

Gracias a Piche por tu apoyo y ayuda incondicional, por la compañía en incontables momentos frente a la computadora trabajando cada uno en lo suyo, gracias por los mejores mates, gracias por leer la tesis y corregirla, te amo.

Hacer ciencia en este contexto socio-cultural actual es muy difícil, empezar el doctorado en pandemia fue muy difícil también, muchas cosas fueron cambiando a través de estos años, pero mi deseo de investigar se mantiene intacto en el tiempo, lo primero que debe existir pero que, sin toda esta red, hubiera sido una tarea imposible.

Introducción general

Arabidopsis thaliana como modelo de estudio: estrategias ecológicas y adaptativas

¿Qué vino primero, la planta o la semilla? Según el registro fósil, primero vino la planta y después la semilla. Pero desde que aparecieron en la Tierra hace aproximadamente 400 millones de años, las plantas con semilla (*Spermatophyta*) diversificaron una enorme variedad de caracteres adaptativos que condicionan el éxito reproductivo (Linkies et al., 2010). Las angiospermas, el grupo más diverso dentro de las plantas con semilla, se caracterizan por poseer flores que favorecen el éxito en la reproducción (Soltis & Soltis, 2004). Dentro de este grupo, las *Brassicaceae* constituyen un clado monofilético con un importante interés agronómico y científico, entre ellas se encuentra *Arabidopsis thaliana* (Figura 1), un organismo modelo ampliamente utilizado en investigación básica y aplicada (Anjum et al., 2012).

Las plantas anuales, como *Arabidopsis thaliana*, presentan ciclos de vida ligados a las condiciones ambientales estacionales, en particular temperatura y fotoperíodo (Junttila, 1996). Sin embargo, otros factores como la calidad de la luz, las precipitaciones, la competencia y las características edáficas también influyen en su establecimiento y éxito reproductivo. *Arabidopsis thaliana* es una especie generalista con una estrategia tipo r: ciclo de vida corto, alta fecundidad, y una inversión energética dedicada a la producción de semillas (Mitchell-Olds & Schmitt, 2006). Una caracterización ecológica funcional de esta especie es que despliega una estrategia adquisitiva, ya que presenta una rápida tasa de crecimiento y una alta eficiencia en el uso de los recursos, invierte en estructuras de bajo costo con área foliar específica alta y presenta un elevado contenido de pigmentos fotosintéticos lo que le permite maximizar su capacidad fotosintética.

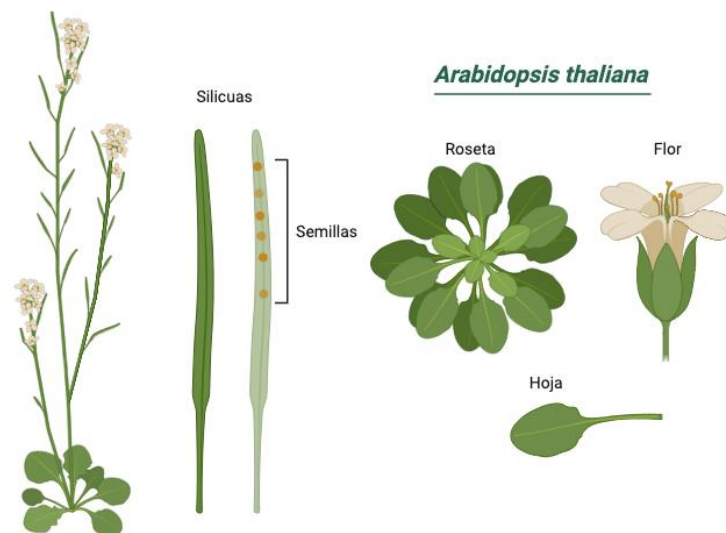


Figura 1. Esquema general de las estructuras vegetativas y reproductivas del modelo de estudio *Arabidopsis thaliana*. Creado en <https://BioRender.com>.

Esta especie es ideal para el estudio de mecanismos de respuesta ambiental, como la plasticidad fenotípica. La plasticidad fenotípica es la capacidad de un organismo de producir diferentes

fenotipos o de modificar etapas del desarrollo en respuesta al ambiente (Gray & Brady, 2016; Lukić et al., 2023). Esta capacidad es esencial para la supervivencia, el crecimiento y la reproducción de los individuos en un entorno cambiante.

Un mismo genotipo puede exhibir una amplia gama de respuestas fenotípicas (Uller, 2008), ajustando su desarrollo o carácter de historia de vida (Sultan, 2000). Es decir que el genotipo despliega estrategias de plasticidad fenotípica para responder consecuentemente a la señal ambiental. Estas respuestas se manifiestan a nivel molecular, celular y morfológico y están desencadenadas por una gran variedad de factores ambientales, tanto abióticos como la temperatura, la concentración de CO₂, la disponibilidad de agua y la salinidad (Cayuela et al., 2019; Gray & Brady, 2016); como abióticos, presencia de patógenos o herbívoros (Lampe, 2019).

En este contexto, la plasticidad es considerada una estrategia que tiene un efecto positivo sobre la aptitud bajo determinadas condiciones (Bonduriansky, 2021). Para que la plasticidad sea adaptativa, la señal ambiental que provoca debe predecir con precisión el ambiente que ejerce la selección sobre el fenotipo del individuo (G. A. Auge, Leverett, et al., 2017). Esta precisión en la respuesta es clave para que el organismo logre sincronizar sus caracteres al ambiente que habita, fenómeno denominado plasticidad adaptativa dentro de la generación o intrageneracional (Ghalambor et al., 2007). Por lo tanto, la capacidad de un organismo de ajustar sus fenotipos de manera concordante con el ambiente hace que la plasticidad sea adaptativa.

Ciclos de vida y ambiente

Las plantas reciben constante información del ambiente; su habilidad para procesar esta información es crítica para ajustar su crecimiento y desarrollo a las condiciones ambientales óptimas que favorezcan su reproducción y supervivencia. De todas las transiciones del desarrollo, especialmente en plantas anuales, la germinación es la más temprana y alberga un efecto drástico en el resto del ciclo de vida de las plantas. El momento en que una semilla germina establece el contexto ambiental en que el crecimiento post-germinativo se produce y los factores de selección que influyen sobre los individuos. Por lo tanto, la germinación tiene una fuerte influencia sobre la expresión de la plasticidad fenotípica a lo largo de todo el ciclo de vida de las plantas (Donohue et al., 2010). La germinación es un proceso finamente regulado por la dormición (bloqueo de la germinación) que aumenta las probabilidades de que la germinación se produzca en el momento adecuado. La dormición es un carácter fuertemente asociado a la adaptación local de las poblaciones (Donohue et al., 2005, 2010; Willis et al., 2014). Por otro lado, la transición de crecimiento vegetativo a reproductivo (floración) tiene relevancia adaptativa en la expresión de los ciclos de vida ya que establece el ambiente en que las semillas se desarrollan y maduran, y también el que tendrán disponible para germinar luego de la dispersión de la planta madre (Dittmar et al., 2014; Segrestin et al., 2018). En consecuencia, germinación y floración están fenotípicamente correlacionadas, proveen la capacidad adaptativa a gradientes climáticos y en conjunto determinan la expresión de los ciclos de vida (Vidigal et al., 2016).

Además, la floración y la dormición/germinación están conectadas a nivel genético. Ambas transiciones comparten redes génicas pleiotrópicas que regulan el momento de germinación y floración (G. A. Auge et al., 2018; Chen et al., 2014; Chiang et al., 2009; Huo et al., 2016). Aún más, la variación genética en la dormición (*DOG1* y *DOG6*) y la floración (*FRI* y *FLC*) interactúan para determinar el momento del ciclo de la planta y el *fitness* de la siguiente generación (Taylor et al., 2017).

Integración de la información ambiental a través de y entre ciclos de vida

Debido a que los diferentes estadios del ciclo de vida tienen una tolerancia variable a las condiciones ambientales, las plantas tienen que regular las transiciones del desarrollo de manera que cada fase del ciclo de vida experimente las condiciones ambientales óptimas para su supervivencia y crecimiento. El momento en que suceden las transiciones del desarrollo está bajo fuerte regulación por múltiples factores ambientales como la temperatura, la calidad de luz, el fotoperíodo, la presencia de nutrientes, entre otros (Capovilla et al., 2015; Footitt et al., 2013; Junttila, 1996; Lorenzo et al., 2016; MacGregor et al., 2015; Wang et al., 2015; Zinn et al., 2010). Las plantas perciben y responden a los cambios en el ambiente durante todo su ciclo de vida, y despliegan múltiples estrategias para responder a estos cambios (Gratani, 2014).

Las plantas también tienen la capacidad de transmitir información ambiental a la progenie (G. Auge et al., 2023; G. A. Auge, Leverett, et al., 2017). Estos efectos transgeneracionales, conocidos como efectos maternos, representan una forma de herencia no genética mediante la cual la generación madre influye en el fenotipo de la progenie (Day & Bonduriansky, 2011; Wolf & Wade, 2009) en distintos estadios del desarrollo: germinación, floración y producción de la siguiente generación. A su vez pueden ser adaptativos o no, dependiendo de la estabilidad y predictibilidad del ambiente entre generaciones (G. A. Auge, Leverett, et al., 2017). Estos efectos pueden estar mediados por señales fisiológicas (como la acumulación de hormonas en las semillas), condiciones nutricionales, cambios estructurales durante la embriogénesis, o modificaciones epigenéticas que afectan la expresión génica del ADN (Auge et al., 2023; Morgan & Donohue, 2022b). Este tipo de herencia no genética permite que la progenie exprese caracteres que reflejan el ambiente de la generación anterior, contribuyendo así a una forma de "memoria ambiental" que puede tener consecuencias adaptativas (Herman & Sultan, 2011). En muchos casos, los efectos transgeneracionales permiten que la progenie responda de manera anticipada al ambiente presente, si este es similar al experimentado por la generación anterior. Sin embargo, si el ambiente cambia de forma impredecible, estos efectos pueden resultar maladaptativos (Akiyama & Ågren, 2014; Authier et al., 2023).

Respuesta a la combinación de ambientes

La presencia de estímulos simultáneos puede influenciar tanto la evolución adaptativa como las respuestas plásticas adaptativas a condiciones multivariadas. De hecho, múltiples estímulos actuando al mismo tiempo pueden alterar los patrones de plasticidad de un estímulo particular, interrumpiendo potencialmente la respuesta adaptativa. Estímulos simultáneos pueden tener

efectos aditivos, sinérgicos o antagonistas sobre los fenotipos de las plantas dando respuestas complejas e impredecibles (Figura 2) (Ramos-Muñoz et al., 2025). Los efectos aditivos ocurren cuando los estímulos simultáneos no interactúan, siendo el efecto total igual a la suma de los efectos. En interacciones sinérgicas, el efecto combinado es mayor a la suma de los efectos individuales. Los efectos sinérgicos típicamente intensifican el impacto de los estímulos sobre el *fitness* y también pueden amplificar la respuesta plástica de caracteres funcionales clave. Por ejemplo, la vernalización aumenta la germinación de la siguiente generación (Auge et al., 2017). En contraste, las interacciones antagonistas ocurren cuando una combinación de estímulos causa un efecto menor a la suma de los efectos por separado. En casos extremos, incluso pueden revertir la respuesta de un estímulo en particular cambiando la magnitud de la plasticidad adaptativa. Por ejemplo, en un experimento de jardín común, evaluaron el efecto combinado de la sequía con la temperatura cálida y la competencia intraespecífica, el análisis estadístico de los diferentes estresores fue clave para entender la plasticidad adaptativa: un efecto significativo de un factor ambiental implicó una respuesta plástica a ese factor, una interacción significativa entre factores ambientales (por ejemplo sequía y temperatura) indicó que la respuesta plástica a la sequía dependió de la temperatura (Ramos-Muñoz et al., 2025).

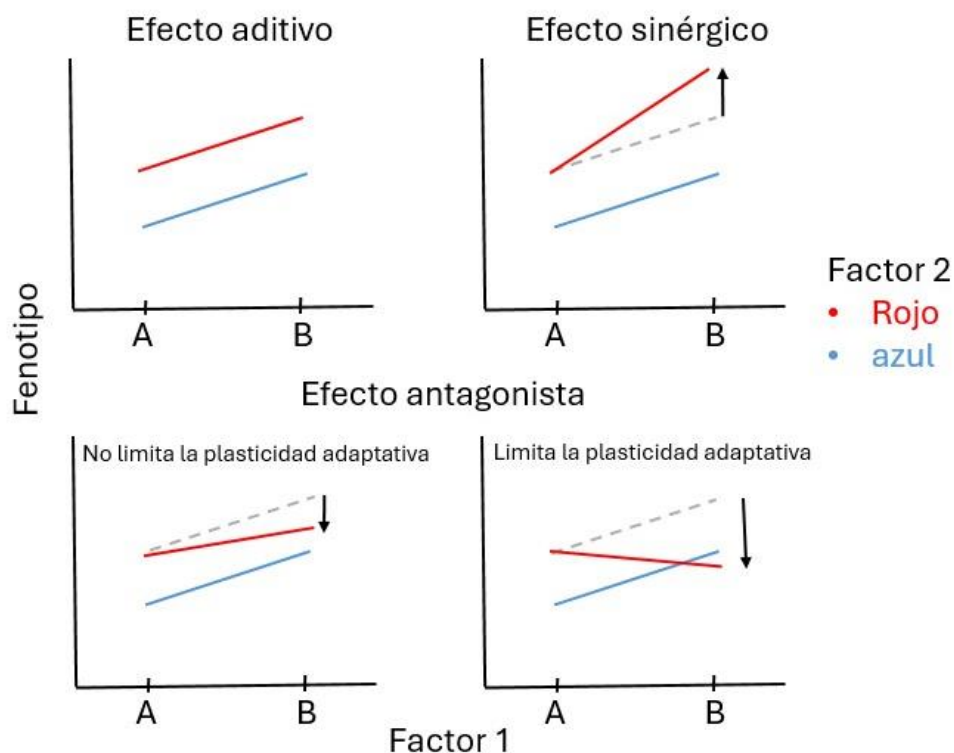


Figura 2. Las respuestas plásticas adaptativas pueden ser modificadas por la presencia de otro factor ambiental reflejadas en una interacción ambiente-ambiente. La norma de reacción en azul representa el cambio fenotípico entre niveles del factor 1. Un efecto aditivo entre factores ocurre cuando no hay interacción entre ellos y el efecto sobre el fenotipo es igual a la suma de los efectos singulares de cada estímulo. Cuando ocurre una interacción sinérgica entre factores, la magnitud de la respuesta adaptativa se incrementa en presencia del factor 2. Cuando la interacción es antagonista hay dos posibilidades: i) la magnitud de la respuesta es menor comparada con una respuesta aditiva pero el fenotipo expresado bajo esa combinación de factores es similar al fenotipo expresado bajo el efecto de un solo factor; ii) la presencia del factor 2 dispara una respuesta en la dirección opuesta de la respuesta adaptativa al factor 1 y el fenotipo resultante bajo peores condiciones es menos adaptativo, en este caso la interacción antagonista entre factores limita la respuesta adaptativa. Adaptado de (Ramos-Muñoz et al., 2025).

El valor adaptativo de la combinación de ambientes a través de las generaciones depende en gran medida de la estabilidad ambiental intergeneracional (correlación ambiental). Entonces, el estudio de los efectos transgeneracionales resulta especialmente relevante en un contexto de cambio climático, donde los ambientes naturales presentan una alta variabilidad. Es más, como este tipo de efectos y los mecanismos subyacentes han sido especialmente estudiados en condiciones de laboratorio (ambientes controlados), su extrapolación a ambientes naturales y su relevancia evolutiva y adaptativa puede no ser reflejada adecuadamente por los datos disponibles. Por lo tanto, resulta de sumo interés comparar respuestas a combinación de ambientes entre generaciones y su influencia sobre el *fitness* de las plantas tanto en laboratorio como en ambientes naturales.

Hipótesis y objetivos

La hipótesis general de este trabajo postula que “Los efectos transgeneracionales, aquellos que influyen sobre las respuestas de generaciones consecutivas de plantas, tienen potencial adaptativo y afectan el crecimiento de las plantas tanto en condiciones controladas como en ambientes naturales. Además, estos efectos son estables aún en plantas que expresan ciclos de vida tanto anuales como perennes.”

El objetivo general de este trabajo es entender qué ocurre con los efectos maternos y cuál es su importancia sobre el *fitness* de las plantas en condiciones naturales

Del mismo se desprenden los siguientes objetivos específicos:

Estudiar la influencia de los efectos maternos sobre la fenología de las plantas de *Arabidopsis thaliana* en condiciones naturales.

Comparar las respuestas de los efectos maternos en condiciones de laboratorio y de campo de plantas de *Arabidopsis thaliana*, especialmente aquellas relacionadas al *fitness*.

Predicciones:

- Las plantas descendientes de madres expuestas a dos temperaturas diferentes mostrarán diferencias significativas en germinación, tiempo a floración y caracteres relacionados al *fitness*.
- En plantas sembradas en condiciones heterogéneas, los efectos del ambiente materno influirán en la emergencia de las plántulas, el tiempo a floración y la biomasa aérea.
- Las plantas que heredan respuestas adaptativas tendrán mayor éxito reproductivo cuando el ambiente se repite, lo que sugiere un papel adaptativo de estos efectos.

Metodología general

Material vegetal

En este trabajo se utilizó la especie *Arabidopsis thaliana*, una planta herbácea dicotiledónea nativa de Eurasia y naturalizada en América. Esta planta es fácilmente propagable y presenta una enorme variabilidad fenotípica asociada a una gran diversidad de ambientes con regímenes diferenciales de temperatura, precipitación y altitud. Además, presenta un ciclo de vida corto, lo que la caracteriza como un modelo de plantas ideal para estudiar la ecología y aspectos genéticos y evolutivos de esta especie, entre otros procesos y mecanismos moleculares. Las poblaciones locales son consideradas ecotipos que pueden caracterizarse por su variabilidad genética y características distintivas en su ciclo de vida y tolerancia diferencial a varios regímenes ambientales. Los ecotipos pueden diferenciarse por su ciclo de vida en anuales de invierno o verano. Los ecotipos anuales de invierno florecen en primavera, pasando el invierno como rosetas, es decir que requieren del proceso de *vernalización* para florecer, mientras que los ecotipos anuales de verano germinan a comienzos de la primavera y florecen inmediatamente después (Baskin & Baskin, 1972; Footitt et al., 2013).

Distribución geográfica

En este trabajo se seleccionaron los ecotipos Cen-0, Cvi-0, Ler-0, Oy-0, Ömö2-1, Ra-0, Sha, Tu-0, Wa-1 y Ws-0 que representan un amplio rango del hábitat y ciclos de vida de la especie *Arabidopsis thaliana* (Figura 3).

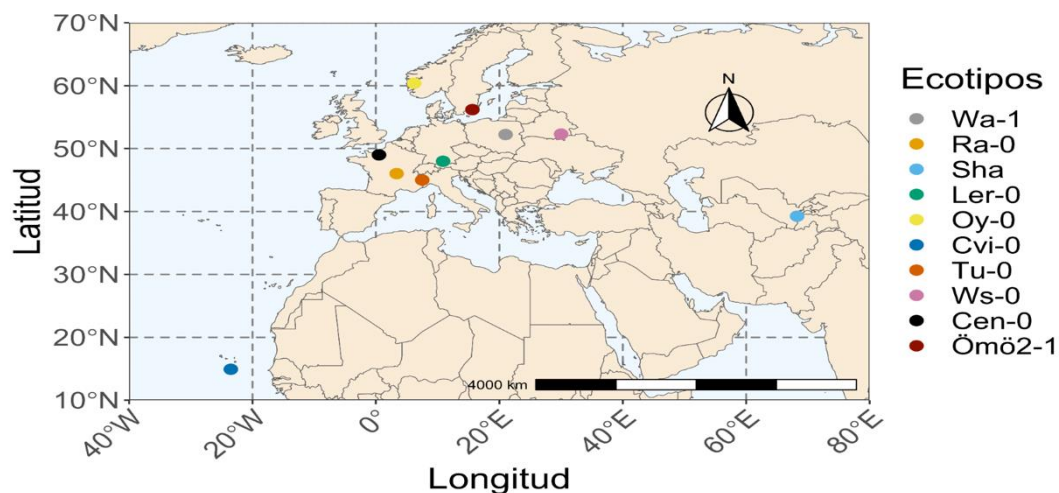


Figura 3. Mapa de distribución geográfica de los 10 ecotipos en estudio.

El ecotipo Cen-0 (*Caen-0*) proviene del noroeste de Francia, específicamente de la región de Caen (49.2°N, -0.4°E), según el 1001 Genomes Project (2016). Esta zona se caracteriza por un clima oceánico templado, con precipitaciones distribuidas de forma relativamente homogénea a lo largo del año, veranos frescos e inviernos templados. Estas condiciones sugieren que Cen-0 representa un ecotipo adaptado a ambientes con alta humedad atmosférica y bajo estrés térmico, en contraste con ecotipos procedentes de regiones mediterráneas más cálidas y secas.

Cvi-0 (*Cape Verde Islands-0*) proviene del archipiélago de Cabo Verde, específicamente de la isla de Santo Antão (15–17°N, 23–25°W), a una altitud aproximada de 1200 m (1001 Genomes Project, 2016). Esta región presenta un clima tropical semiárido, con precipitaciones escasas y estacionales, concentradas en los meses de verano, y temperaturas elevadas durante todo el año. Las condiciones topográficas y edáficas, con suelos volcánicos bien drenados, sugieren que Cvi-0 representa un ecotipo adaptado a ambientes cálidos en verano e inviernos fríos dada la elevada altitud, con baja disponibilidad hídrica y alta radiación solar, siendo de gran interés para estudios sobre tolerancia al estrés abiótico. Este ecotipo muestra un ciclo de vida anual de invierno, germina en otoño y pasa el invierno como roseta para florecer y liberar las semillas al comienzo del verano (Footitt et al., 2013).

El ecotipo Ler-0 (*Landsberg erecta*) es una línea derivada del ecotipo silvestre Landsberg, recolectado originalmente en Landsberg an der Warthe, una región situada en la actual Polonia occidental (Redei, 1962; 1001 Genomes Project, 2016). A partir de esa población, se seleccionó una mutación espontánea en el gen *ERECTA*, responsable de su morfología característica de tallo corto y ramas compactas. Esta línea se estabilizó y se utilizó ampliamente como fondo genético en estudios genéticos y moleculares, convirtiéndose en uno de los ecotipos más representativos del laboratorio junto con Columbia (Col-0). Si bien su origen está en un ambiente templado continental, Ler-0 fue mantenido y propagado bajo condiciones controladas durante años, por lo que su comportamiento actual puede no reflejar directamente las adaptaciones ecológicas del ecotipo original. Sin embargo, su origen geográfico sugiere adaptación a estaciones frías, con inviernos marcados y veranos templados, lo que explica su corto tiempo a floración y rápida germinación.

El ecotipo Oy-0 (*Oystese-0*) tiene su origen en la localidad de Oystese, ubicada en la región de Vestland, en el suroeste de Noruega (1001 Genomes Project, 2016; NASC, 2024). Esta zona se caracteriza por tener un clima costero frío, con inviernos largos, abundantes precipitaciones y veranos templados y cortos. La altitud baja, pero latitud alta (~60.4° N) expone a las poblaciones a estaciones contrastantes y fotoperíodos extremos durante el año. Oy-0 es un ecotipo adaptado a condiciones de baja temperatura, alta humedad ambiental y marcadas variaciones estacionales, lo que lo convierte en un buen modelo para estudiar la respuesta a vernalización, la sincronización de la floración y la adaptación a latitudes altas.

El ecotipo Öm2-1 (*Ostra mocklo*) habita la localidad de Ostra Mocklo, ubicada en el mar Báltico, en Suecia (1001 Genomes Project, 2016; NASC, 2024). Esta región presenta un clima templado frío, con inviernos largos y fríos, y veranos cortos y templados. La latitud alta (~57.4° N) implica un marcado ciclo estacional y una fuerte presión selectiva sobre la fenología de las plantas, especialmente en lo relacionado con la vernalización y el fotoperíodo. Öm2-1 es un ecotipo adaptado a ambientes donde la temperatura baja (inviernos largos y veranos templados y cortos) y el fotoperíodo fluctuante son factores clave, siendo un modelo importante para el estudio de la regulación genética de la floración.

El ecotipo Ra-0 (*Randan-0*) proviene de la localidad de Randan, situada en la región de los Alpes, en Francia (1001 Genomes Project, 2016; NASC, 2024). Esta área se caracteriza por tener un clima con inviernos fríos y nevados, y veranos templados y relativamente cortos. La altitud moderada a alta de la región (~800–1500 msnm) expone a las poblaciones a fuertes

variaciones térmicas. En este contexto, Ra-0 representa un ecotipo adaptado a condiciones de estrés térmico y un ciclo fenológico ajustado para aprovechar las temporadas cortas de crecimiento, lo que lo convierte en un modelo útil para estudiar la adaptación a climas fríos.

El ecotipo Sha (*Shahdara* o *Shakdhara*) tiene su origen en la región de Shahdara, situada en el este de Tayikistán, en Asia Central (1001 Genomes Project, 2016; NASC, 2024). Esta área se caracteriza por tener un clima extremo, con inviernos muy fríos y veranos calurosos y secos. La topografía montañosa y la altitud variable (~700–1500 msnm) contribuyen a un ambiente con fuertes fluctuaciones térmicas y condiciones ambientales estresantes. Sha representa un ecotipo adaptado a condiciones de alta variabilidad climática, estrés hídrico y térmico, siendo un modelo valioso para estudiar mecanismos de tolerancia al estrés abiótico.

El ecotipo Tu-0 (*Turin-0*) es de la ciudad de Turín, ubicada en la región de Piamonte, en el norte de Italia (1001 Genomes Project, 2016; NASC, 2024). Esta área presenta un clima templado húmedo, con inviernos fríos y veranos calurosos y moderadamente húmedos. El ecotipo Tu-0 está adaptado a estas condiciones climáticas templadas, con estaciones marcadas, lo que lo hace útil para estudios sobre adaptación a climas templados.

El ecotipo Wa-1 (*Warsaw-1*) es de la ciudad de Varsovia, capital de Polonia (1001 Genomes Project, 2016; NASC, 2024). Esta región presenta un clima variable, caracterizado por inviernos fríos y nevados, y veranos cálidos y moderadamente húmedos. Wa-1 representa un ecotipo adaptado a las condiciones climáticas de Europa central, con una fenología ajustada a estaciones marcadas y períodos de crecimiento relativamente cortos debido a las bajas temperaturas invernales.

La adaptación local de estos ecotipos está determinada por la variación natural genética asociada a diferentes genes que regulan el tiempo a floración y la germinación como *FLC*, *FRI*, *FWA* y *DOG1* (ver Tabla 1).

Tabla 1. Requerimiento de Vernalización y funcionalidad de *FLC* y *FRI* en Ecotipos de *Arabidopsis thaliana*. Nivel esperado de *FLC* sin vernalización, respuesta esperada de germinación, funcionalidad de *FLC* y *FRI*, requerimiento de vernalización y origen de los diez ecotipos en estudio.

Ecotipo	Nivel esperado de <i>FLC</i> NV	Respuesta esperada de germinación	<i>FLC</i>	<i>FRI</i>	Requerimiento de vernalización	Origen
Cen-0	Alto	Baja	Funcional	Funcional	Moderado	España
Ler-0	Bajo	Alta	No Funcional	No Funcional	Nulo	Alemania
Wa-1	Bajo	Baja	No Funcional	Funcional	Nulo	Polonia
Cvi-0	Alto	Baja	Funcional	Funcional	Alto	Cabo Verde
Öm62-1	Bajo	Baja	Funcional	Funcional	Alto	Suecia
Oy-0	Bajo	Baja	No Funcional	No Funcional	Nulo	Noruega
Ra-0	Alto	Baja	Funcional	No Funcional	Moderado	España
Ws-0	Alto	Alta	Funcional	Funcional	Alto	Rusia
Sha	Bajo	Baja	No funcional	Funcional	Nulo	Tayikistán
Tu-0	Alto	Baja	No Funcional	Funcional	Moderado	Alemania

Condiciones de crecimiento en laboratorio

G0 y G1

Una primera generación de plantas (G0) fue criada para homogeneizar el ambiente en el cual la primera generación de semillas (G1) fue producida con el objetivo de remover cualquier efecto materno indeseado (Figura 4). Las semillas G0 fueron embebidas en agar 0,6% p/v (Plant Agar, Duchefa Biochemie) por cuatro días a 4°C en oscuridad. Luego, las semillas fueron transferidas usando una pipeta a macetas de 180 ml con un mix de tierra:perlita en proporción 2:1 (Grow Mix Multipro; Agroquímica Larrocca SRL). Las macetas fueron colocadas en una cámara de crecimiento (tubos de luz blanca, 4100 K, PAR ~ 180 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) donde las semillas germinaron a 23°C con un fotoperíodo de día largo (DL, 16 hs luz; 8 hs oscuridad). Una semana luego de la germinación, el exceso de plántulas fue eliminado dejando una planta focal por maceta. Se crecieron 3 réplicas biológicas por ecotipo (plantas individuales) para la G0. Las plantas fueron regadas regularmente (2 o 3 veces por semana) y fertilizadas con Hakaphos 0,1 w/v (Compo Agricultura) a partir de floración. Las plantas fueron creadas a 23°C y DL hasta la cosecha. Las semillas fueron cosechadas cuando dos terceras partes de las silicuas estuvieron maduras y fueron colocadas en una bolsa hermética con sílica gel por tres días. Las semillas de las tres plantas G0 individuales fueron mezcladas y colocadas en tubos de microcentrífuga de 1,5 ml para generar un único stock de G1 por ecotipo, y luego fueron almacenadas en heladera hasta ser usadas para los experimentos.

Las semillas de la generación 1 (G1) fueron embebidas en placas de Petri con agar-agua 0,6 % p/v (Plant Agar, Duchefa Biochemie) y posteriormente colocadas a 4°C durante 4 días, en oscuridad. Cumplido el tiempo, las semillas se transfirieron a macetas de 180 ml rellenas con sustrato usando una micropipeta (para las plantas creadas durante 2022 se utilizó GrowMix Multipro, Terrafertil S.A., y perlita, Agroquímica Larrocca S.R.L., en proporción 2:1; para aquellas creadas a partir de 2023 se utilizó sólo sustrato TabacoMix, Terrafertil S.A.). Ya sembradas, las macetas se colocaron en una cámara de cultivo a 23°C (condiciones controladas) con un fotoperíodo de día largo (DL, 16 hs luz, 8 hs oscuridad). Pasada una semana, se removió el exceso de plántulas dejando una planta focal por maceta. Una vez pasados catorce días (dos semanas) desde la emergencia de las plántulas, las plantas se dividieron en dos grupos para aplicar los tratamientos de temperatura: 1) el grupo de plantas no vernalizadas (NV) se mantuvo en la cámara de cultivo a 23°C durante todo el ciclo de vida hasta cosecha (condición control); y 2) el grupo de plantas vernalizadas (V) se transfirió a una cámara de cultivo a 5°C con un fotoperíodo de 12 hs luz / 12 hs oscuridad durante 4 semanas. Finalizado el tratamiento de vernalización, se colocaron las plantas nuevamente en la cámara de cultivo a 23°C con fotoperíodo DL durante el resto del ciclo de vida junto con el grupo control de plantas hasta cosecha. Las plantas fueron fertilizadas tres veces por semana con Hakaphos Rojo (Compo Agricultura), luego de la vernalización, durante todo el ciclo de vida. Se crecieron 6 réplicas biológicas (diferentes plantas madre) por ecotipo y tratamiento, dando el siguiente número de plantas: 10 ecotipos x 6 réplicas biológicas x 2 tratamientos = 120 plantas en total para la primera generación.

La cosecha de las plantas fue realizada cuando 2/3 del total de los frutos se encontraban maduros y secos, las semillas cosechadas (G2) se colocaron en tubos de microcentrífuga de 1,5 ml separados por planta madre. Estas semillas fueron utilizadas para hacer ensayos de germinación en condiciones controladas y para hacer los ensayos de emergencia en campo con dos días de secado previo en cada caso. Las semillas se almacenaron en freezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta las siembras en el campo para pausar el estado fisiológico de las mismas. Para el año 2022 las semillas tuvieron un tiempo de postmaduración de tres semanas a temperatura ambiente previo almacenamiento en frío mientras que durante 2023 y 2024, ambas cohortes tuvieron 3 días de postmaduración antes de ser congeladas. El crecimiento de las plantas se realizó de forma escalonada para sincronizar la cosecha de las semillas.

G2

Para explorar los efectos de la temperatura en la expresión de la plasticidad a través de las generaciones, se llevó a cabo un experimento multigeneracional en el cual se crecieron plantas descendientes de la G1 tratada en todas las combinaciones posibles de vernalización obteniendo un total de cuatro tratamientos entre ambas generaciones (ensayo factorial completo): 1) NV-NV, 2) NV-V, 3) V-NV y 4) V-V (Figura 4). Estas plantas fueron crecidas hasta su madurez y las semillas G3 fueron cosechadas y almacenadas como se explicó más arriba. Se utilizaron 6 réplicas biológicas (diferentes plantas madre) x 10 ecotipos x 4 tratamientos maternos = 240 plantas en total para la G2.

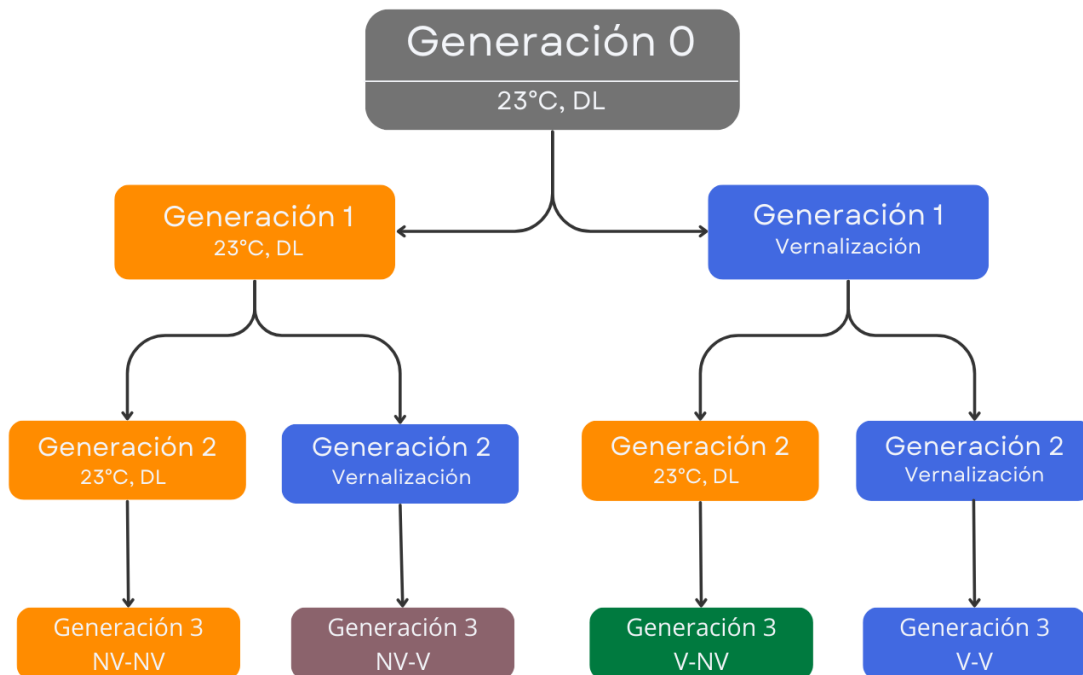


Figura 4. Diagrama de generaciones y tratamientos maternos. La G0 fue crecida en condiciones homogéneas a 23°C , DL durante todo el ciclo de vida, se utilizaron 3 réplicas. La G1 (generación madre) se creció en dos condiciones contrastantes de temperatura NV y V. Se cuantificó el tiempo a floración y otras variables fenológicas, se utilizaron 6 réplicas. A partir de la G2 se realizaron ensayos de germinación y se creció en condiciones contrastantes de temperatura en el laboratorio o en el campo en condiciones heterogéneas y novedosas, se midieron variables como la emergencia a campo, el tiempo a floración, el diámetro y área foliar y la producción de biomasa reproductiva (a campo). La G3 se utilizó para realizar ensayos de germinación y calcular el peso total y el área de

semillas, la combinación de los tratamientos maternos que le dieron origen son: naranja, NV-NV; violeta, NV-V; verde, V-NV y azul, V-V.

Tratamiento con 5-Azacitidina

La 5-Azacitidina (de acá en adelante Aza) es un químico que afecta la homeostasis de metilación del genoma en plantas y animales. Su efecto es, específicamente, reducir la metilación, borrando las marcas epigenéticas en contexto mCG y mCHH, siendo más favorecida la reducción de la metilación en contexto mCHH (Griffin et al., 2016).

Durante 2024 se realizó un experimento con Aza para estudiar la respuesta de la progenie frente a cambios en la metilación del genoma de las plantas G1 y la interacción con el ambiente de estas (Figura 5). En este ensayo se decidió usar los ecotipos Ler-0, Tu-0 y Cen-0, los cuales presentan fenotipos contrastantes de dormición, germinación y tiempo a floración en las condiciones de crecimiento utilizadas. Para dicho experimento, se trataron las semillas de la primera generación con el siguiente protocolo: se colocaron las semillas en placas de Petri con medio 0.5X MS a la cual se agregaron 1000 μ l de una solución 50 μ M de 5-Azacitidina (Sigma Aldrich S.A.) preparada fresca o con una solución control sólo con DMSO (Sigma Aldrich S.A.). La solución de Aza se dejó embeber en el medio con la placa semi abierta dentro del flujo laminar y luego las placas se incubaron en frío (heladera, 4°C) y oscuridad durante 3 días. Las semillas estratificadas fueron trasplantadas a macetas de 250 ml con sustrato (Tabaco Mix, Terrafertil). Una vez pasados catorce días, las macetas se ralearon para dejar una planta focal y se sometió a la mitad de las plántulas a un tratamiento de vernalización por cuatro semanas. Una vez finalizado ese tiempo, se las trasladó a una cámara a 23°C con el resto de la cohorte hasta finalizar el ciclo de vida y realizar la cosecha de las semillas de la G2. Las plantas se crecieron de forma escalonada para sincronizar el momento de cosecha. La cosecha y el almacenamiento de las semillas se realizó como se explica más arriba. Estas semillas fueron usadas para realizar ensayos de germinación en condiciones controladas y para la siembra en el ensayo de campo del año 2024. Para el experimento con Aza se utilizaron 3 ecotipos x 4 tratamientos x 12 réplicas biológicas = 240 plantas.

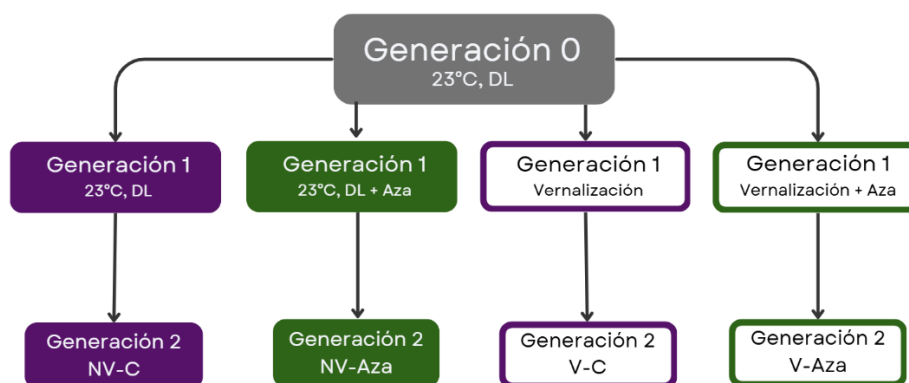


Figura 5. Diagrama de generaciones para el tratamiento con Aza. La G1 fue crecida en cuatro condiciones experimentales contrastantes: tratamiento de no vernalización, tratamiento de no vernalización + Aza, tratamiento de vernalización y tratamiento de vernalización + Aza. Se midieron diferentes variables fenológicas para esta generación: tiempo a floración, diámetro de la roseta y área foliar. Se utilizaron las semillas de la G2 para realizar

ensayos de germinación en condiciones controladas, medir peso total y área de semillas y también se utilizaron esas semillas para realizar ensayos de campo en 2024. Las combinaciones de tratamientos son: NV-Control, NV-Aza; V-Control y V-Aza. Los colores corresponden a: violeta, Control; verde, Aza.

Experimentos en condiciones naturales

Para evaluar la relevancia de los efectos maternos sobre la respuesta de las semillas y plantas en condiciones naturales, se realizaron 3 ensayos a campo en años consecutivos (2022-2024). En cada uno de ellos se manipuló la fecha de siembra para comparar a su vez los efectos del ambiente dentro de cada año de ensayo. Las fechas de siembra para cada año se detallan en la Tabla 2.

Tabla 2. Tabla con las fechas correspondientes al comienzo de los ensayos de campo realizados durante esta tesis y el número de réplicas utilizadas para cada ensayo de emergencia y fenología.

Año	Otoño		Primavera	
'22		30/05/2022 6 réplicas emergencia 6 réplicas fenología		18/10/2022 6 réplicas emergencia 6 réplicas fenología
'23	05/05/2023 6 réplicas emergencia 6 réplicas fenología	02/06/2023 6 réplicas emergencia 6 réplicas fenología	05/09/2023 6 réplicas emergencia 6 réplicas fenología	06/10/2023 6 réplicas emergencia 6 réplicas fenología
'24	08/05/2024 12 réplicas emergencia 12 réplicas fenología	05/06/2024 12 réplicas emergencia 12 réplicas fenología		

Primer año

El sitio de experimentación correspondiente al año 2022 está ubicado en el predio de Ciudad Universitaria, más específicamente dentro del Campo Experimental. Coordenadas geográficas: 34°32'47.3"S 58°26'23.6"W (Figura 6).

Se estableció una parcela de 4 x 5 metros y se removió la tierra dentro de la misma en un cuadrante de 3 x 4 m. Se complementó dicho cuadrante con sustrato (Grow Mix Multipro, Terrafertil S.A.) y se mezcló con la tierra del sitio. Luego se cubrió la tierra con una malla textil antihierba para evitar el crecimiento indeseado de especies albergadas en el banco de semillas de la parcela. Se establecieron aleatoriamente los bloques de 40 x 50 cm utilizando las funciones '*matrix*' y '*sample*' en el lenguaje de programación R (R Core Team, 2024). El diseño experimental contenía doce bloques en total, se asignaron de forma aleatoria seis bloques por fecha de siembra (Tabla 2). Cada bloque fue dividido en dos (20 x 25) para asignar al área para emergencia de plántulas y para el seguimiento de fenología. Una vez asignada la posición de los bloques, se realizaron unos cortes en la malla antihierba de forma tal de colocar cajas de cartón de 50 x 40 con una profundidad de 10 cm. Las cajas fueron rellenas con sustrato Grow Mix Multipro (Terrafertil S.A.). Cada bloque fue cubierto con una estructura de perfiles de aluminio en forma de cubo cubiertas de malla antiáfido para evitar el ingreso de artrópodos y otros animales que pudieran dañar las plantas, y para evitar la lluvia de semillas desde otros bloques o de plantas circundantes. Cada caja con sustrato fue enterrada en los bloques y fueron regadas el día anterior a las siembras realizadas para que el sustrato alcanzara capacidad de campo y se estabilizara respecto al suelo circundante al inicio del ensayo.

Se sembraron semillas G2 provenientes de la G1 crecida en condiciones controladas con diferentes tratamientos de temperatura para evaluar la respuesta de la progenie en condiciones naturales novedosas. Se utilizaron diez ecotipos de la especie *Arabidopsis thaliana* (ver Distribución Geográfica).

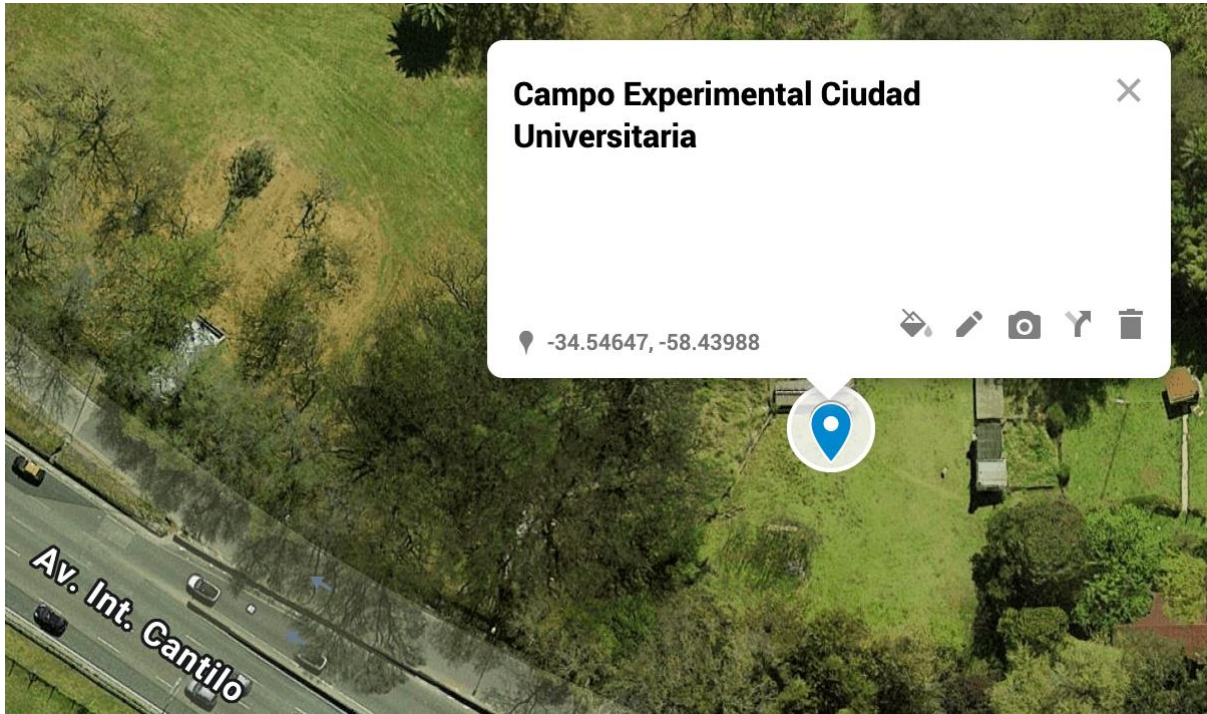


Figura 6. Mapa del sitio de experimentación para el año 2022. Campo experimental dentro del predio de Ciudad Universitaria.

Segundo año

El sitio de experimentación correspondiente a los años 2023 y 2024 está ubicado en el predio del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CNIA) del INTA-Castelar, en las inmediaciones del Instituto de Agrobiotecnología Molecular (IABIMO), con coordenadas geográficas 34°36'16.3"S 58°40'19.6"W (Figura 7).

Para el año 2023 se estableció una parcela de 6 x 12 metros con doce bloques por fecha de siembra (dos en otoño y dos en primavera; Tabla 2), asignando seis para emergencia de plántulas y seis para fenología en cada una de las siembras. La posición de los bloques se asignó de forma aleatoria como se explica más arriba (ver Primer año). La preparación de la parcela fue siguiendo el mismo protocolo con la diferencia de que, para estos años, se usó Tabaco Mix (Terrafertil) como sustrato y se aumentó el número de bloques por fecha de siembra.

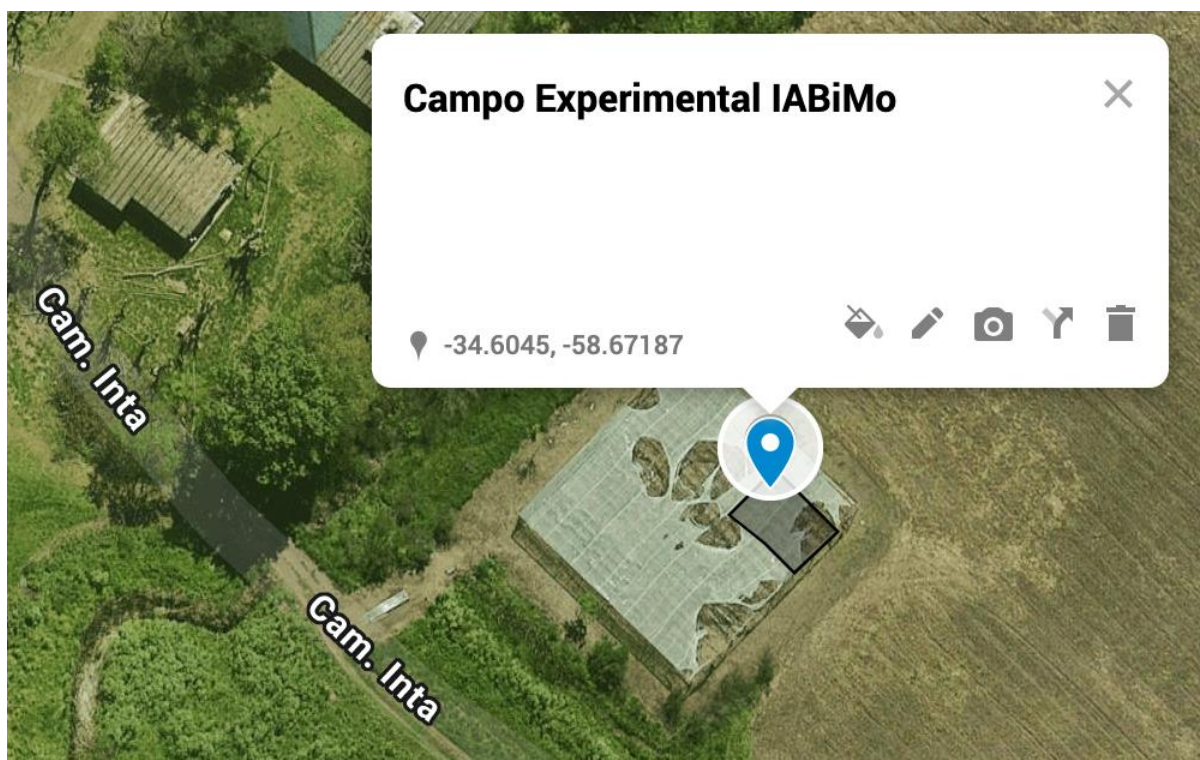


Figura 7. Mapa del sitio de experimentación para los años 2023 y 2024. Campo experimental dentro del predio del INTA-Castelar, Instituto de Agrobiotecnología Molecular (IABiMo).

Tercer año

Para el año 2024, se estableció una parcela de 6 x 12 metros utilizando un diseño similar al del año anterior. Se asignaron doce bloques para emergencia y doce para fenología por fecha de siembra (dos en otoño, Tabla 2).

Se llevó a cabo un ensayo de campo en el que se sembraron semillas provenientes de plantas G1 tratadas con y sin Aza, y el tratamiento de vernalización o crecimiento control que también se implementó en los años anteriores. Se utilizaron doce réplicas maternas por ecotipo, tratamiento de Aza y ambiente térmico de la G1, las cuales fueron distribuidas en doce bloques de emergencia para la primera siembra de otoño. Además, se establecieron doce bloques de fenología, resultando en un total de veinticuatro bloques para esta siembra inicial. Para la segunda siembra de otoño, se emplearon nuevamente doce bloques de emergencia y doce bloques de fenología, manteniendo el total de veinticuatro bloques (Tabla 2). Para este ensayo se utilizaron tres ecotipos: Cen-0, Tu-0 y Ler-0.

Los datos climáticos fueron obtenidos de la estación meteorológica del INTA-Castelar a partir del Sistema de Información y Gestión Agrometeorológica (SIGA).

Capítulo I: Germinación, emergencia y efectos maternos – una comparación entre condiciones controladas y naturales

*Algo que crezca hacia afuera y hacia dentro,
que me recuerde que las raíces
se miden por la fuerza con la que el brote busca el cielo*

Mercedes Romero Russo

Resumen

Los efectos maternos tienen relevancia en la respuesta de germinación de la progenie. Bajo esta premisa surgió la pregunta de si, además, estos efectos influyen en la emergencia de la progenie en condiciones ambientales naturales y novedosas. Para esto se creció una primera generación en condiciones homogéneas a 23°C y DL (no vernalizadas, NV) o se vernalizaron durante el estadio de plántula (V) por 4 semanas a 5°C, y luego fueron mantenidas con las plantas control hasta cosecha. Se cosechó la segunda generación y se hicieron ensayos de germinación en semillas frescas y postmaduradas tres, seis y doce meses. Además, las hermanas de estas semillas fueron sembradas en el campo en dos estaciones (otoño y primavera) para hacer ensayos de emergencia de plántulas. En paralelo se creció la segunda generación en condiciones contrastantes repitiendo los tratamientos de vernalización y no vernalización. Esta segunda generación dio origen a la tercera con la que se realizaron ensayos de germinación en condiciones controladas para evaluar los efectos transgeneracionales. Los resultados muestran que la germinación y la emergencia de plántulas están determinadas por interacciones entre el ambiente materno y el ecotipo, con efectos que pueden persistir a lo largo del tiempo de postmaduración y transmitirse a la siguiente generación. En condiciones controladas, la vernalización de las plantas madre moduló la germinación de manera diferencial según el ecotipo y el tiempo postcosecha, manteniendo diferencias significativas incluso después de doce meses. En el campo, se observó que la respuesta de emergencia depende de la interacción con el ambiente de las semillas y el ecotipo. La inclusión del tratamiento con Aza reveló que la homeostasis de metilación del ADN influye en la expresión de los efectos maternos, modificando patrones de germinación y evidenciando que, en algunos casos, el ambiente más reciente (segunda generación) tiene mayor peso que el ambiente materno. En condiciones naturales, la emergencia también respondió a la interacción entre vernalización, Aza y ecotipo, con patrones opuestos entre ecotipos y variaciones según la fecha de siembra, lo que sugiere que la metilación del ADN puede modular la percepción y respuesta a señales ambientales previas, contribuyendo a la expresión de efectos transgeneracionales en la naturaleza.

Introducción

La dormición de las semillas es un rasgo adaptativo fundamental que impide la germinación prematura fuera de la estación óptima (Donohue et al., 2010). La dormición se establece durante el desarrollo de la semilla en la planta madre y está controlada por factores genéticos y ambientales (Iwasaki et al., 2022; Leventhal et al., 2025). Su función es asegurar que las semillas germinen en condiciones ambientales óptimas para la supervivencia y reproducción de la progenie (Iwasaki et al., 2019; Leventhal et al., 2025). El control de la dormición de las semillas postdispersión se divide en dos categorías principales: el control materno (efectos maternos) y el control ambiental (plasticidad dentro de la generación), los cuales interactúan de manera compleja.

Efectos maternos en la dormición

Las condiciones ambientales experimentadas por las plantas madre tienen una influencia en la dormición de las semillas de su progenie (G. A. Auge, Blair, et al., 2017; Iwasaki et al., 2022; Lukić et al., 2023). Estos efectos ambientales maternos están bien documentados en plantas y pueden persistir a lo largo del desarrollo de la progenie (G. Auge et al., 2023; G. A. Auge, Leverett, et al., 2017).

La temperatura durante la maduración de la semilla es el factor ambiental más dominante que afecta el rendimiento y la dormición de las semillas (He et al., 2014; Huang et al., 2014). Las bajas temperaturas experimentadas por la madre antes o durante la maduración de las semillas pueden reducir la germinación (G. A. Auge, Blair, et al., 2017; Authier et al., 2023; Iwasaki et al., 2019, 2022). Los efectos de la temperatura materna en la dormición también pueden influir en las respuestas de germinación a la disponibilidad de agua (Edwards et al., 2016). En especial, la vernalización (exposición al frío) en estadios tempranos del ciclo de vida de las plantas madre aumenta la germinación de la progenie en algunos ecotipos de *Arabidopsis thaliana* (G. A. Auge, Blair, et al., 2017). Además, el fotoperíodo (Burghardt et al., 2016), los niveles de luz (Leverett et al., 2016) y el estado nutricional (He et al., 2014) de la planta madre también afectan la dormición. Por ejemplo, un aumento en la disponibilidad de nitratos de la planta madre reduce el contenido de ABA y los niveles de dormición de la progenie (Iwasaki et al., 2022).

La regulación de los efectos maternos sobre la dormición y la germinación tiene una base genética y epigenética (Figura 8). En *Arabidopsis thaliana*, *FLC* (un importante regulador de la floración) tiene un efecto pleiotrópico en la sincronización de la germinación: los alelos con una alta expresión de *FLC* se asocian con una mayor germinación debido a que el *FLC* materno afecta la síntesis de proantocianinas en la cubierta de la semilla y la expresión de genes relacionados con la señalización de ABA en la semilla (G. A. Auge, Blair, et al., 2017; Donohue et al., 2010; Footitt et al., 2013; Iwasaki et al., 2022; Taylor et al., 2017). El silenciamiento de *FLC* durante el invierno es un proceso epigenético (Sharma et al., 2020; Whittaker & Dean, 2017) que se restablece durante la fertilización (Xu et al., 2022), aunque el

alelo materno puede conservar una memoria de la temperatura al menos hasta el inicio de la maduración de la semilla (Iwasaki et al., 2022; Sharma et al., 2020; Whittaker & Dean, 2017; Xu et al., 2022).

El gen *FLC* está a su vez inducido transcripcionalmente por FRIGIDA (*FRI*): un alelo funcional de *FRI* activa *FLC*, lo que genera un retraso en la floración (Taylor et al., 2017). Sin embargo, ambos genes también influyen en etapas pre-reproductivas como la germinación. En estudios previos se observó que alelos fuertes de *FLC* en conjunto con *FRI* están asociados a un mayor nivel de germinación de las semillas sin importar el ambiente materno. Pero en progenie de madres no vernalizadas, la presencia de *FRI* disminuyó la germinación independientemente de *FLC*, indicando una posible vía alternativa de regulación. En ese contexto, la disrupción de *FLC* disminuye la germinación de la descendencia, especialmente para semillas de plantas no vernalizadas, reforzando su rol como regulador positivo de la germinación dependiendo del ambiente materno. Por otra parte, en progenie de madres vernalizadas el efecto de ambos genes sobre la germinación de la progenie fue ambiguo, lo que podría reflejar una interacción más compleja entre la memoria epigenética de la vernalización y la regulación genética de la semilla (G. A. Auge, Blair, et al., 2017).

Por otro lado, el gen *ALLANTOINASE (ALN)*, regulador negativo de la dormición de expresión materna en semillas dormidas, expresado por el alelo materno en el endosperma, es crucial para regular los niveles de dormición (Iwasaki et al., 2019, 2022). Cuando la planta madre experimenta temperaturas frías, el gen *ALN* es silenciado por la vía no canónica del mecanismo de metilación del ADN dirigida por ARN (*RNA-directed DNA Methylation*, RdDM; Iwasaki et al., 2019). El frío estimula la metilación del transposon *ATHPOGONI* que se encuentra río arriba en el promotor del gen *ALN*, lo que aumenta la dormición de la progenie. Este proceso de metilación es específico de los tejidos de la semilla y se pierde después de la germinación (Iwasaki et al., 2019).

Plasticidad intrageneracional

El ambiente inmediato experimentado por la progenie también ejerce un fuerte control sobre la expresión de la dormición y la respuesta de germinación, lo que se conoce como plasticidad dentro de la generación o intrageneracional. La temperatura del suelo es el principal factor ambiental que influye en el ciclo de dormición estacional de las semillas (Footitt et al., 2013), este ciclo implica cambios lentos y estacionales en la dormición hasta alcanzar la emergencia de las plántulas.

La acumulación de la proteína DELAY OF GERMINATION 1 (*DOG1*) está asociada al ciclo de dormición (Chiang et al., 2011). Su expresión se correlaciona negativamente con la temperatura del suelo (Footitt et al., 2013) y determina el tiempo necesario para la liberación de la dormición en semillas recién cosechadas (Iwasaki et al., 2022). Es responsable de la mayor parte de la variación en la sincronización de la germinación (Taylor et al., 2017) y se ha demostrado que promueve la maduración de las semillas además de la dormición (Iwasaki et al., 2022). Además, la variación genética en el gen *DOG1* está asociada a la variación natural

en el nivel de dormición y la adaptación local (Kronholm et al., 2012). Los altos niveles de la hormona ácido abscísico (ABA) están correlacionados con la dormición; esta hormona se acumula al inicio de la maduración de las semillas y es de origen materno, siendo reemplazada gradualmente por ABA endógeno sintetizado por la semilla (Iwasaki et al., 2022). La acumulación sostenida de ABA luego de la imbibición de semillas dormidas reprime la germinación. Las giberelinas (GA) promueven la germinación de las semillas, la expresión de GA3ox1 es máxima a medida que disminuye la dormición (Iwasaki et al., 2022).

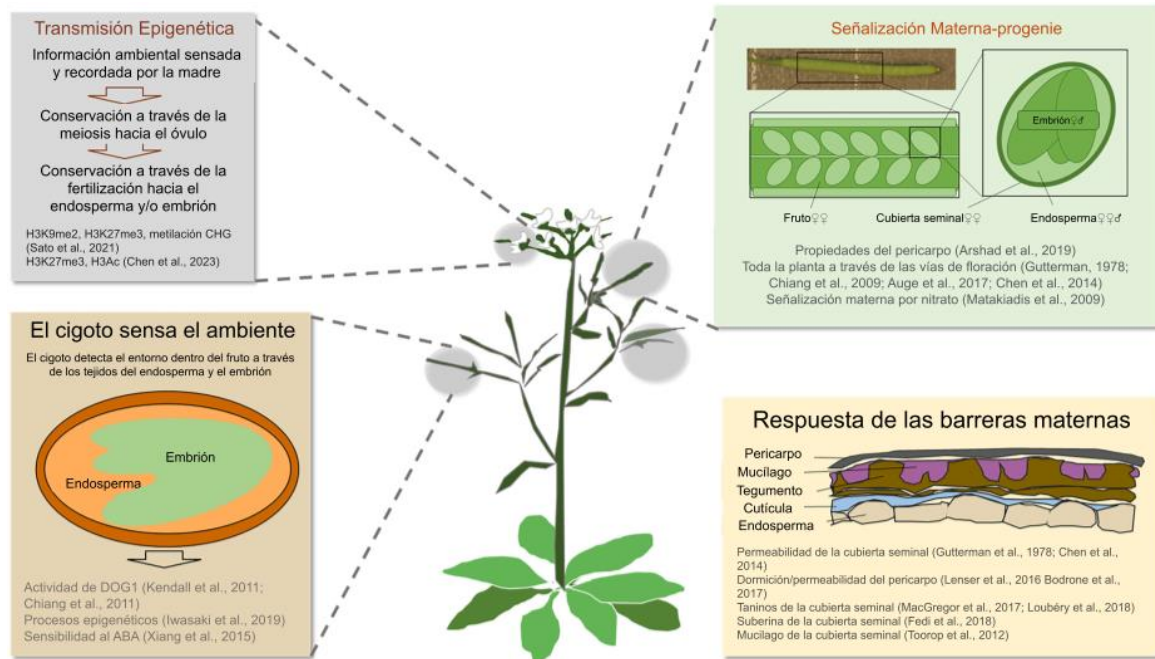


Figura 8. Vías por las cuales la dormición de la semilla se puede ver influenciada por el ambiente materno. Figura adaptada de Bezodis & Pendfield, 2024.

A pesar de los avances en la comprensión de los mecanismos genéticos y moleculares que regulan la dormición y germinación de las semillas, la mayoría de los estudios fueron realizados en condiciones controladas de laboratorio. Por lo que aún persiste un vacío en el conocimiento sobre cómo los efectos maternos se expresan y mantienen en condiciones naturales, donde las condiciones son variables y heterogéneas. Comprender estas interacciones es clave para evaluar la importancia adaptativa de los efectos maternos en la persistencia y el éxito reproductivo de las poblaciones. En este capítulo planteamos la hipótesis de que la influencia del ambiente materno sobre la dormición y germinación de *Arabidopsis thaliana* depende del ambiente en el que se desarrolla la progenie y que estos efectos son igual de significativos en condiciones naturales y en el laboratorio. Para contrastar esta hipótesis se evaluó la germinación a distintos tiempos de postmaduración y la emergencia a campo en 3 ensayos de campo consecutivos con diferentes fechas de siembra donde la progenie proviene de ambientes maternos contrastantes.

Materiales y métodos

Ensayos de Germinación

Todos los ensayos de germinación en condiciones controladas se realizaron utilizando placas de Petri de 35 mm con agar-agua 0,6 % p/v y sembrando veinte semillas correspondientes a una planta madre por placa (una réplica biológica y unidad de análisis). Las placas se ubicaron en un cuarto con control de ambiente a 23 °C con luces blancas (tubos LED 4100 K, PAR ~ 100 - 130 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), y un fotoperíodo de DL (16 hs luz, 8 hs oscuridad).

Se contabilizó la cantidad de semillas germinadas por día durante siete días o hasta alcanzar el máximo de germinación. Los ensayos de germinación en condiciones controladas se llevaron a cabo con semillas frescas (dentro de los tres días luego de ser cosechadas), y postmaduradas por tres, seis y doce meses para captar la influencia de los efectos maternos sobre la pérdida de dormición primaria de las semillas.

Proporción de germinación

Para calcular la proporción de germinación se utilizó el número de semillas germinadas al día 7 para el análisis de laboratorio, divididas por el número total de semillas sembradas por placa.

Ensayos de emergencia

Para registrar la emergencia de las plántulas en el campo, se sembraron 20 semillas por cuadrante asignado de forma aleatoria para cada Ecotipo x Tratamiento Materno en cada bloque, y se registró la emergencia de las plántulas durante 15 días. Las plántulas emergidas fueron extraídas de los cuadrantes y descartadas para evitar errores en el conteo. La emergencia se considera posterior a la germinación que es la protrusión de la radícula a través de la cubierta seminal, pero dadas las condiciones de campo se tomó la emergencia como una estimación de la germinación.

Análisis estadístico

Germinación

Los efectos sobre germinación fueron analizados con modelos lineales generalizados (*glm*) y test de máxima verosimilitud para evaluar los efectos maternos y su interacción con los ecotipos. En primer lugar, se planteó un modelo general en el que se analizó el efecto de las variables explicatorias Tratamiento Materno, Ecotipo y su interacción (Trat. Temp x Ecotipo) sobre la variable respuesta proporción de germinación. Ambas variables explicatorias son cualitativas y de efectos fijos y están cruzadas entre sí (Información suplementaria, Tablas 1, 2 y 3). Para el análisis se utilizó una familia de distribución binomial con una función de enlace logit. La función Anova, del paquete *'car'* (Fox & Weisberg, 2019), se utilizó para evaluar la interacción entre las variables explicatorias.

Para evaluar las diferencias fenotípicas no relacionadas con la variación genética del efecto del tratamiento materno (y Aza, según el caso), se construyeron submodelos para cada ecotipo. Se utilizaron modelos lineales generalizados con la variable respuesta proporción de germinación

y como variable explicatoria el tratamiento materno. Se aplicó una corrección de ajuste del p -valor por comparaciones múltiples con la función '*p.adjust*' y el método '*Holm*' del paquete '*stats*' (R Core Team, 2024)

Tamaño y dirección del efecto materno

Para estimar el tamaño y la dirección de los efectos maternos sobre la germinación de la progenie se utilizaron los modelos lineales generalizados ajustados (con distribución binomial y enlace logit) utilizando la función '*glm*' con corrección de sesgo mediante el paquete '*brglm2*' (Kosmidis & Firth, 2021). La variable respuesta fue la proporción de germinación, modelada como el número de semillas germinadas sobre el total sembrado. El tamaño del efecto materno se expresó como el coeficiente estimado en *log-odds* para el contraste entre tratamientos de temperatura (V vs NV). El coeficiente *log-odds* representa el logaritmo natural de la razón de *odds* de germinación entre dos grupos, donde las *odds* se definen como el cociente entre la probabilidad de germinación y la probabilidad de no germinación ($p/(1-p)$). Esta transformación permite modelar relaciones lineales en el contexto de regresión logística y facilita la interpretación de los efectos en términos de aumentos o disminuciones relativos en la probabilidad de germinación. La dirección del efecto materno se interpretó según el signo del coeficiente: coeficientes positivos indicaron que el tratamiento de vernalización (V) aumentó la germinación respecto al control de no vernalización (NV), coeficientes negativos indicaron que la vernalización redujo la germinación. La magnitud del coeficiente refleja el tamaño del efecto y su significancia estadística se evaluó mediante los intervalos de confianza (IC) del 95%: si el IC incluyó el cero, el efecto se consideró no significativo. Para cada combinación de ecotipo y tiempo de postmaduración se calcularon los coeficientes e intervalos de confianza correspondientes. En el análisis de efectos transgeneracionales, se ajustaron modelos por separado para los ambientes de la G1 (TM) y de la G2 (TP), sin incluir la interacción con el fin de evaluar la contribución relativa de cada ambiente sobre la germinación de la tercera generación.

Emergencia

Los efectos sobre la emergencia de las plántulas en el campo fueron analizados con modelos lineales generalizados ('*glm*') y test de máxima verosimilitud para evaluar los efectos maternos y su interacción con los ecotipos. En primer lugar, se planteó un modelo general en el que se analizó el efecto de las variables explicatorias Tratamiento Materno, Ecotipo y su interacción (Tratamiento Materno x Ecotipo) sobre la variable respuesta proporción de emergencia. Ambas variables explicatorias son cualitativas y de efectos fijos y están cruzadas entre sí. Para el análisis se utilizó una familia de distribución binomial con una función de enlace logit. La función Anova, del paquete '*car*' (Fox & Weisberg, 2019), se utilizó para evaluar la interacción entre las variables explicatorias.

Para evaluar las diferencias fenotípicas no relacionadas con la variación genética del efecto del tratamiento materno (y Aza, según el caso), se construyeron submodelos para cada ecotipo. Se utilizaron modelos lineales generalizados con la variable respuesta proporción de plántulas emergidas y como variable explicatoria el tratamiento materno. Se aplicó una corrección de

ajuste del p -valor por comparaciones múltiples con la función '*p.adjust*' y el método '*Holm*' del paquete '*stats*' (R Core Team, 2024).

Resultados

Germinación, y emergencia en respuesta a los efectos maternos

Germinación en condiciones controladas

Para discernir si existió una contribución del ambiente materno sobre el primer proceso del desarrollo en el ciclo de vida, se exploró la respuesta de germinación midiendo la proporción de semillas germinadas al séptimo día luego de la siembra. Se repitieron los ensayos en condiciones controladas en tres años consecutivos y se siguió la respuesta de germinación a lo largo de un año luego de la cosecha (tiempo de postmaduración).

Interacción entre variación genética y efectos maternos en la respuesta de germinación en condiciones controladas

Primer año

La respuesta de germinación de la progenie dependió de la interacción entre el tratamiento materno y el ecotipo (Tabla 1A, Información suplementaria; Tratamiento Materno x Ecotipo). La mayoría de los ecotipos mostró una respuesta diferencial de germinación al tratamiento materno en semillas frescas, con excepción del ecotipo Ra-0 (Tabla 1B, Información suplementaria), lo que puede ser debido a la germinación nula en este momento de postcosecha. En particular, los ecotipos Cen-0, Cvi-0, Ömö2-1, Oy-0, Sha, Wa-1 y Ws-0 mostraron mayor germinación cuando las semillas provinieron de plantas madre NV, comparadas con las producidas por plantas tratadas con V. Ler-0 y Tu-0 se comportaron de forma contraria, germinaron más las semillas provenientes de madres V (Figura 9).

Estos patrones se reflejaron también en los coeficientes estimados del efecto del tratamiento materno (V vs NV) sobre la germinación (Figura 10). En semillas frescas (cero meses), la mayoría de los ecotipos presentó coeficientes negativos, indicando que la vernalización materna redujo la germinación, con efectos significativos para Ws-0, Wa-1, Sha y Oy-0. En contraste, Tu-0 mostró un efecto positivo significativo, sugiriendo que la vernalización aumentó su germinación inicial.

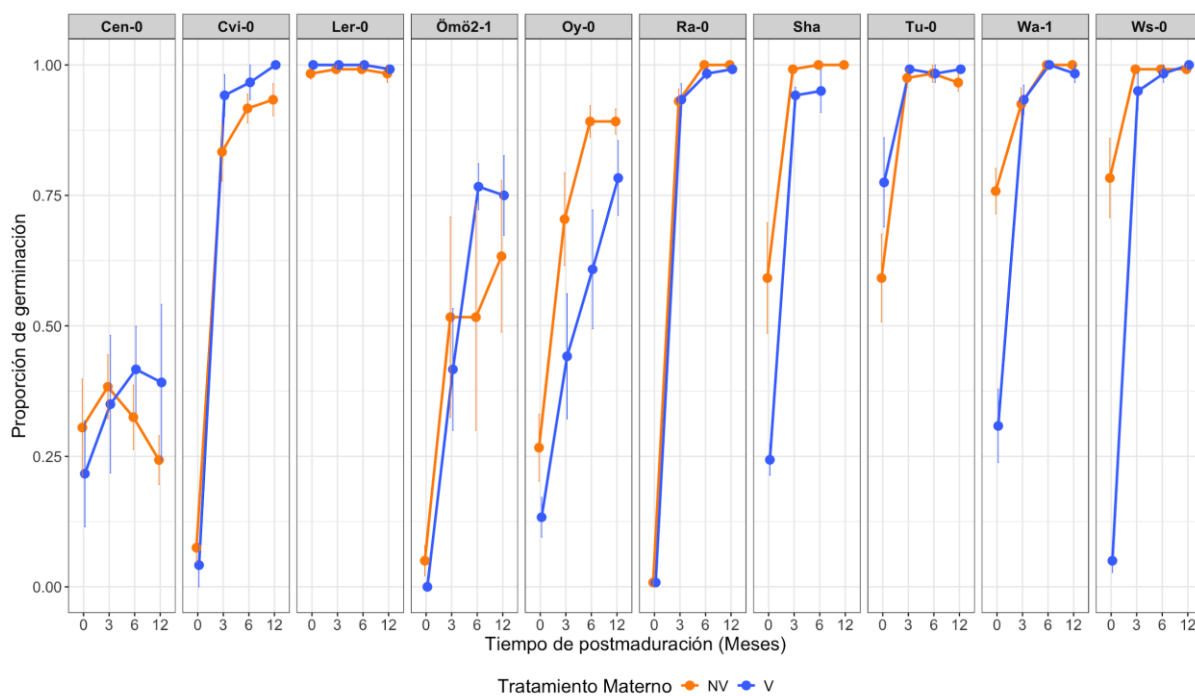


Figura 9. Proporción de germinación en función del tiempo de postmaduración (0, 3, 6 y 12 meses) para los ecotipos Cen-0, Cvi-0, Ler-0, Öm2-1, Oy-0, Ra-0, Sha, Tu-0, Wa-1 y Ws-0 (paneles de izquierda a derecha), para el tratamiento materno de no vernalización (NV, naranja) y vernalización (V, azul). Los puntos son los valores de proporción de germinación promedio de 6 réplicas biológicas para cada tiempo luego de la cosecha con su correspondiente error estándar. No hay datos para Sha-V 12 meses.

A medida que transcurrió el tiempo de postmaduración, las semillas fueron perdiendo dormición y aumentó la proporción de germinación. La interacción entre los efectos maternos y el ecotipo fue significativa en todos los tiempos de postmaduración (Tabla 1A, Información suplementaria), lo que indica que, si bien las semillas perdieron la dormición primaria, la respuesta difirió entre ecotipos dependiendo del ambiente materno.

Los coeficientes estimados mostraron que Cen-0, Cvi-0, Öm2-1 y Tu-0 presentaron efectos positivos de la vernalización materna en algún momento dentro del curso de postmaduración mientras que Oy-0, Sha, Wa-1 y Ws-0 tuvieron un efecto negativo (Figura 10).

El análisis del efecto materno en la proporción de germinación discriminado por ecotipo mostró que a los tres meses de postmaduración se encontraron diferencias para la mayoría de los ecotipos, con excepción de Wa-1 y Ra-0, evidenciando que los tratamientos maternos tienen efecto a mediano plazo, pero con una contribución de la variación genética (Tabla 1B, Información suplementaria). A los seis meses de postmaduración Wa-1 y Tu-0 no mostraron diferencias significativas (Tabla 1B, Información suplementaria) y a los doce meses todos los ecotipos mostraron diferencias significativas entre tratamientos maternos, sugiriendo persistencia e incluso una intensificación de los efectos maternos a largo plazo (Tabla 1B, Información suplementaria) que se reflejó en los coeficientes de tamaño y dirección del efecto, especialmente para los ecotipos Oy-0, Cvi-0 y Cen-0 (Figura 10).

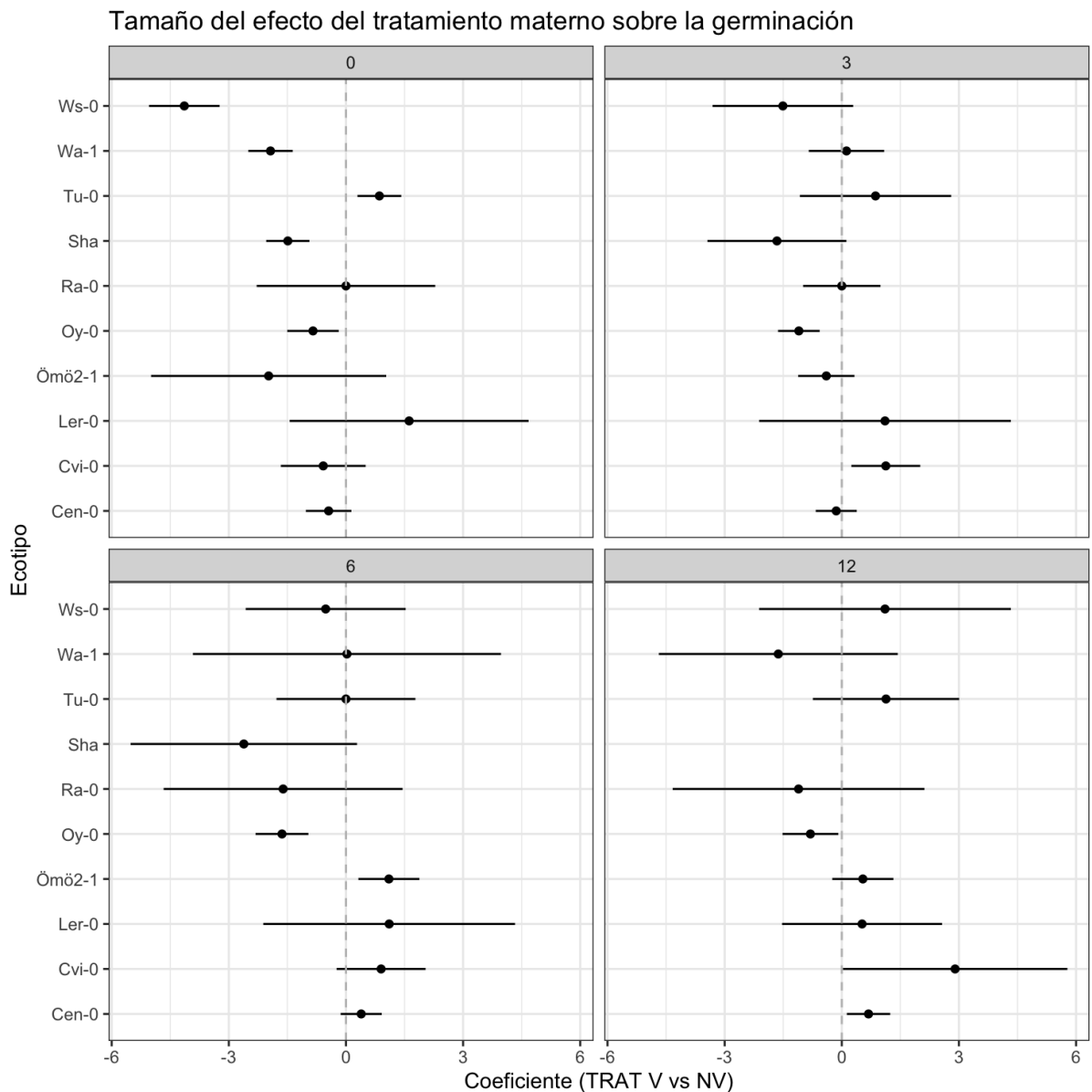


Figura 10. Tamaño y dirección del efecto del tratamiento materno (V vs NV) sobre la germinación por ecotipo y mes. Cada punto es el coeficiente estimado en *log-odds* (contraste V vs NV), con IC 95%; la línea vertical en 0 representa sin efecto. Coeficientes > 0 indican que V aumenta la germinación respecto de NV; coeficientes < 0 indican que V la reduce.

Segundo año

Para el año 2023, el análisis estadístico mostró una interacción significativa entre el tratamiento materno y el ecotipo, indicando que la respuesta de germinación de al menos uno de los ecotipos fue influenciada por el ambiente de la generación anterior (Tabla 2A, Información suplementaria). La proporción de germinación mostró el patrón de pérdida de dormición esperado a medida que transcurrió el tiempo postcosecha, aunque a tiempo cero no mostró diferencias significativas entre semillas que provienen de madres NV y V como las observadas en el año 2022 (Figuras 9 y 11). En general, los ecotipos Cen-0, Ra-0 y Tu-0 mostraron una proporción de germinación mayor en semillas de madres NV (opuesto al patrón esperado según

G. A. Auge, Blair, et al., 2017), mientras que Ler-0 y Öm2-1 se comportaron de forma contraria: la proporción de germinación fue mayor en semillas provenientes de madres V.

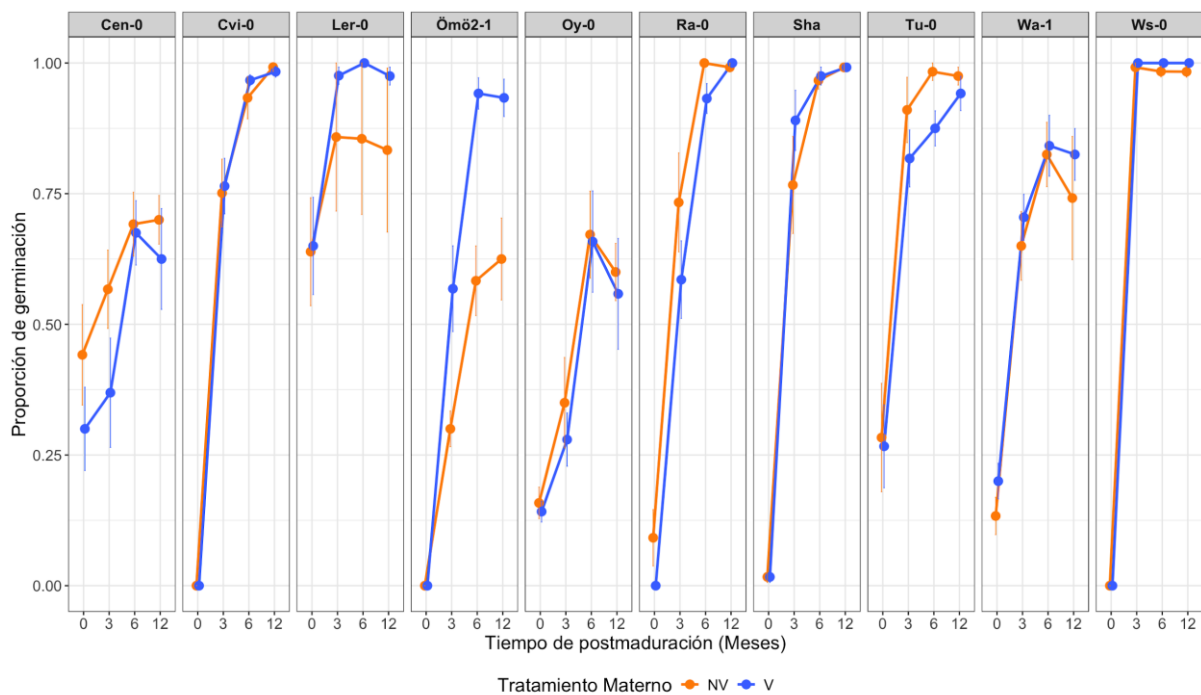


Figura 11. Proporción de germinación en función del tiempo de postmaduración (0, 3, 6 y 12 meses) para los ecotipos Cen-0, Cvi-0, Ler-0, Öm2-1, Oy-0, Ra-0, Sha, Tu-0, Wa-1 y Ws-0 (paneles de izquierda a derecha), para el tratamiento materno de no vernalización (NV, naranja) y vernalización (V, azul). Los puntos son los valores de proporción de germinación promedio para cada tiempo luego de la cosecha con su correspondiente error estándar.

A tiempo cero, los ecotipos Wa-1, Ra-0 y Cen-0 mostraron un significativo efecto del tratamiento materno sobre la respuesta de germinación de la progenie (Tabla 2B, Información suplementaria). Las semillas de Wa-1 provenientes de madres V germinaron más, mientras que las de Ra-0 y Cen-0 se comportaron de forma contraria: la dirección del efecto indicó que la germinación fue mayor en semillas provenientes de madres NV (Figura 12). A los tres meses postcosecha todos los ecotipos mostraron diferencias significativas en el análisis (excepto Cvi-0, Tabla 2B; Información suplementaria), evidenciando que los efectos maternos persisten modulando la respuesta de germinación de la progenie: Sha, Wa-1 y Ws-0 germinaron más cuando el tratamiento materno fue NV mientras que Cen-0, Ler-0, Öm2-1, Oy-0, Ra-0 y Tu-0 se comportaron de forma contraria. A este tiempo postcosecha la dirección del efecto mostró resultados contradictorios: Sha, Öm2-1 y Ler-0 tuvieron efectos positivos de la vernalización mientras que Tu-0, Ra-0 y Cen-0 tuvieron efectos negativos, es decir que la progenie proveniente de madres NV germinó más (Figura 11). A los seis meses postcosecha, los ecotipos Cvi-0, Ler-0, Öm2-1, Ra-0, Tu-0 y Ws-0 mostraron diferencias significativas en la respuesta de germinación dependiendo del tratamiento materno (Tabla 2B, Información suplementaria): Cvi-0, Ler-0, Öm2-1 y Ws-0 germinaron más cuando el tratamiento fue V mientras que Ra-0 y Tu-0 se comportaron de forma contraria. En cuanto a la dirección del efecto los resultados fueron consistentes: Ler-0 y Öm2-1 tuvieron efectos negativos y Ra-0 y Tu-0 positivos lo que

indica una inversión en la respuesta en comparación a tiempos anteriores (Figura 12). A los doce meses postcosecha todos los ecotipos mostraron diferencias significativas, excepto Sha (Tabla 2B, Información suplementaria): Cen-0, Cvi-0, Oy-0 y Tu-0 germinaron más cuando el tratamiento materno fue NV mientras que Ler-0, Ömö2-1, Ra-0, Wa-1 y Ws-0 se comportaron de forma contraria. Además, Ler-0 y Ömö2-1 tuvieron una dirección del efecto del tratamiento de vernalización positiva indicando una mayor germinación en semillas provenientes de madres V. Estos resultados indican que los efectos maternos continúan modulando la respuesta de germinación de la progenie por un tiempo prolongado luego de la cosecha y que estos efectos varían entre ecotipos en dirección y magnitud.

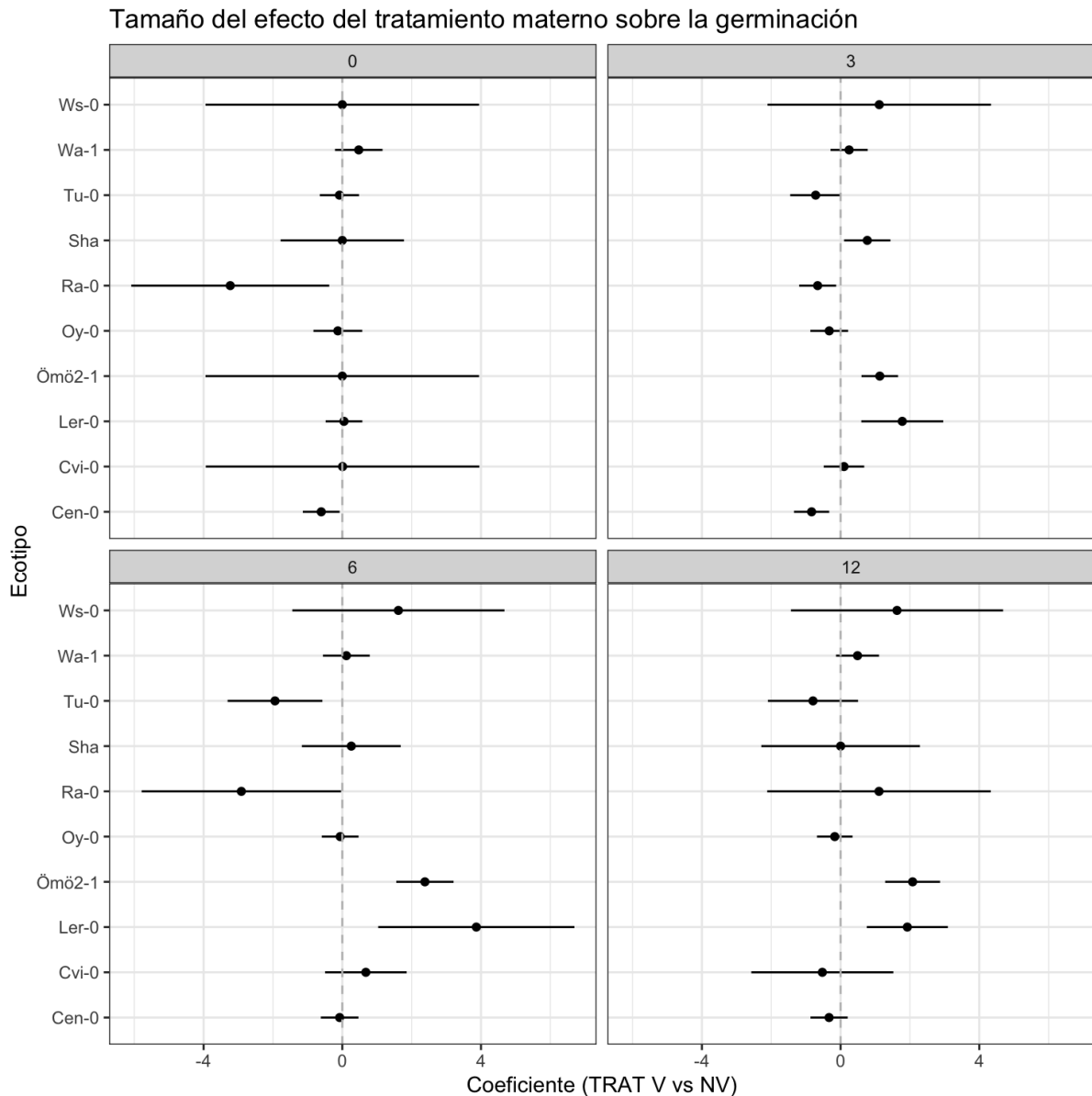


Figura 12. Tamaño y dirección del efecto del tratamiento materno (V vs NV) sobre la germinación por ecotipo y mes. Cada punto es el coeficiente estimado en *log-odds* (contraste V vs NV), con IC 95%; la línea vertical en 0 representa sin efecto. Coeficientes > 0 indican que V aumenta la germinación respecto de NV; coeficientes < 0 indican que V la reduce.

Tercer año

Si bien se pudo demostrar que el efecto del ambiente de la generación anterior tiene un efecto sobre la germinación de la progenie, en este nuevo experimento se exploró el potencial efecto de la modificación de la homeostasis de metilación del ADN y su interacción con el ambiente sobre las semillas de la progenie.

Con estas semillas se observó una triple interacción significativa entre el tratamiento de vernalización, el tratamiento de Aza y el ecotipo sobre la respuesta de germinación de la progenie (Tabla 3A, Información suplementaria). Esto indica que al menos para alguno de los ecotipos, los efectos maternos requieren de una correcta homeostasis de metilación del ADN en el genoma.

Además, la proporción de germinación varió significativamente en función del tiempo de postmaduración, con diferencias claras en la respuesta de las semillas a lo largo del periodo analizado (Tabla 3A, Información suplementaria). En general, las semillas presentaron un incremento en la germinación con el tiempo de postmaduración (Figura 13).

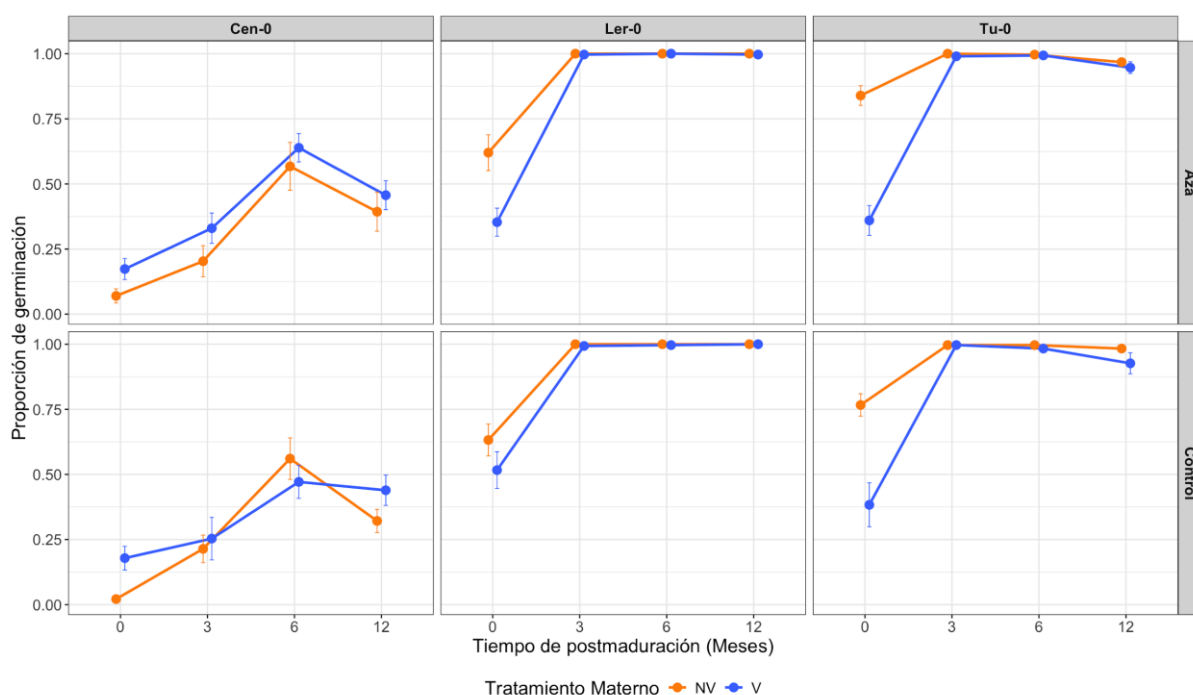


Figura 13. Proporción de germinación en función del tiempo de postmaduración (0, 3, 6 y 12 meses) para los ecotipos Cen-0, Ler-0 y Tu-0 (paneles de izquierda a derecha), para el tratamiento materno de no vernalización (NV, naranja) y vernalización (V, azul). El panel de arriba corresponde al tratamiento con 5-Azacidina (Aza) y el panel de abajo corresponde al Control. Los puntos son los valores de proporción de germinación promedio para cada tiempo luego de la cosecha con su correspondiente error estándar.

A tiempo cero de postmaduración, los tres ecotipos en estudio mostraron una interacción significativa entre ambos tratamientos maternos: vernalización y Aza (Tabla 3B, Información suplementaria), indicando que hay un efecto combinado de los tratamientos que afectan la germinación de la progenie. Respecto al tratamiento de temperatura, se observó que las semillas

de los ecotipos Ler-0 y Tu-0 que provenían de madres NV germinaron más que aquellos que provenían de madres V. Cen-0 mostró el patrón contrario, germinaron más las semillas provenientes de madres V. En cuanto al tratamiento con Aza, para Ler-0 la germinación fue mayor en semillas V y no hubo diferencias para las semillas NV; para Tu-0 la germinación fue mayor en semillas NV y no hubo diferencias para semillas V; por último, para Cen-0, la germinación fue mayor en semillas NV y no hubo diferencias para semillas V (Tabla 3B, Información suplementaria).

A los tres meses postcosecha, Cen-0 y Tu-0 continuaron mostrando una respuesta significativa al efecto combinado de los tratamientos de vernalización y Aza: las semillas Cen-0 V germinaron más con el tratamiento de Aza; para el ecotipo Tu-0 la germinación fue mayor para semillas NV y Aza; mientras que Ler-0 ya no mostró diferencias para la interacción probablemente debido a que la germinación fue máxima para los cuatro tratamientos (Tabla 3B, Información suplementaria).

Sin embargo, luego de seis meses de postmaduración, la germinación no mostró un efecto del tratamiento materno de temperatura o del tratamiento químico (Tabla 3A, Tratamiento de vernalización x Tratamiento de Aza x Ecotipo: ns; Información suplementaria), lo que sugiere que, a este punto del desarrollo, los factores analizados ya no interactúan de manera conjunta para modular la germinación.

Al disectar el análisis por tratamientos se analizó el efecto de cada uno de ellos por separado para determinar la contribución diferencial de los mismos a la germinación de la progenie.

Las semillas frescas y postmaduradas por tres meses mostraron un efecto significativo del tratamiento de temperatura y Aza por separado para cada uno de los ecotipos (Tabla 3B, Información suplementaria): Cen-0 germinó más cuando el tratamiento materno fue V-Aza comparado con NV-Aza mientras que Ler-0 y Tu-0 germinaron de forma similar para todos los tratamientos maternos: las semillas NV Aza y Control germinaron más que las semillas V. En cuanto a la dirección del efecto a tiempo cero Tu-0 y Cen-0 NV se vieron afectadas positivamente por el tratamiento de Aza mientras que Ler-0 V se vio afectada negativamente, las semillas germinaron menos. A los tres meses Cen-0 V fue influenciada de forma positiva por el tratamiento de Aza, las semillas germinaron más que bajo el tratamiento Control (Figura 13). A los seis meses, Cen-0 no mostró un efecto del tratamiento de vernalización, pero sí del de Aza (Tabla 3B, Información suplementaria), lo que se ve reflejado en la dirección del efecto de Cen-0 V: el efecto del tratamiento de Aza es positivo indicando que las semillas germinan más comparadas con el tratamiento Control (Figura 14). Tu-0 y Ler-0 mostraron efectos significativos sobre la germinación de la progenie para ambos tratamientos por separado en este tiempo de postmaduración (Tabla 3B, Información suplementaria), en ambos ecotipos se observó una tendencia positiva del efecto de la Aza cuando el otro tratamiento fue V (Figura 13). A los doce meses, Tu-0 no mostró un efecto del tratamiento con Aza, pero sí para el tratamiento de vernalización (Tabla 3B, Información suplementaria): las semillas V germinaron más que las NV (Figura 14). Ler-0 y Cen-0 mostraron efectos significativos sobre la germinación de la progenie para ambos tratamientos por separado (Tabla 3B, Información suplementaria) con efectos contrarios: Ler-0 V germinaron menos con Aza mientras que Cen-

0 NV germinaron significativamente más cuando el tratamiento fue Aza, indicando que la vernalización afecta la germinación de la progenie incluso a los doce meses postcosecha y que, dependiendo del ecotipo, el tratamiento con Aza también continúa teniendo efecto.

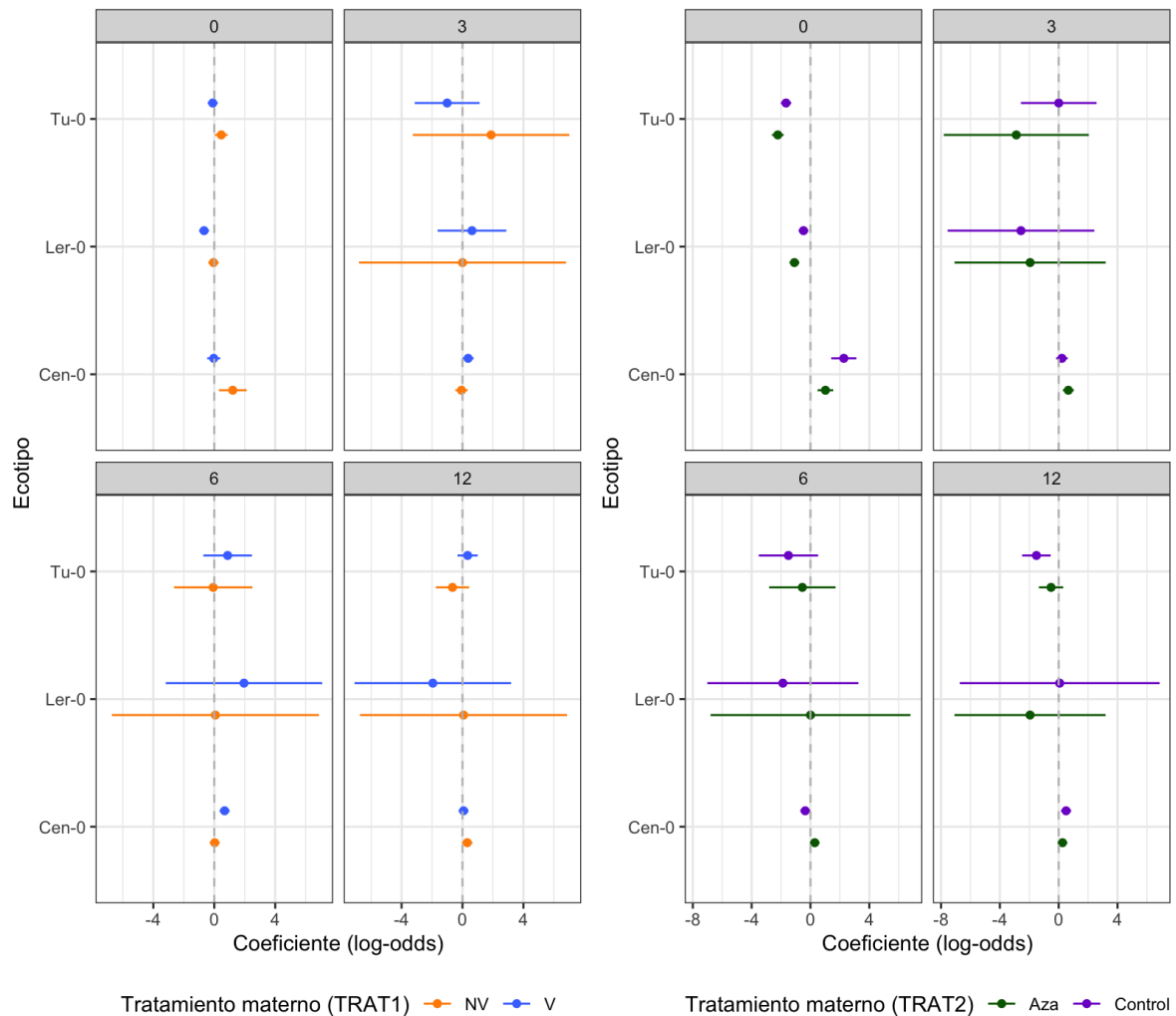


Figura 14. Tamaño y dirección de los efectos maternos sobre la proporción de germinación en tres ecotipos de *Arabidopsis thaliana* (Tu-0, Ler-0 y Cen-0) a diferentes tiempos de postmaduración (0, 3, 6 y 12 meses). Los gráficos muestran los coeficientes estimados (*log-odds*) y sus intervalos de confianza. Panel izquierdo: efecto del tratamiento de Aza para cada tratamiento de temperatura (NV, naranja; V, azul). Coeficientes > 0 indican que Aza aumenta la germinación respecto del Control; coeficientes < 0 indican que Aza la reduce. Panel derecho: efecto del tratamiento de vernalización para cada tratamiento de Aza o Control (Aza, verde; Control, violeta). Coeficientes > 0 indican que la vernalización aumenta la germinación respecto de la no vernalización; coeficientes < 0 indican que la vernalización la reduce.

Los efectos transgeneracionales dependen de la combinación de ambientes y del ecotipo

Para evaluar la persistencia de los efectos maternos a través de las generaciones (efecto transgeneracional), se analizó la respuesta de germinación de la tercera generación de semillas luego del crecimiento de las plantas en ambientes control y de vernalización en las primera y

segunda generaciones (generación inicial del 2022). De esta manera se pudo analizar la respuesta de la combinación de ambientes en dos generaciones consecutivas.

Las variables ambientales de la primera y segunda generación, el ecotipo y el tiempo de postmaduración interaccionaron significativamente para regular la germinación (Tabla 4A, Información suplementaria). Además, el análisis de la triple interacción entre los ambientes y los meses de postmaduración para cada uno de los ecotipos mostró significancia para Wa-1, Sha, Oy-0, Cen-0 y Ömö2-1 (Tabla 4B, Información suplementaria). Específicamente, para los ecotipos Cen-0 y Ömö2-1 se observó que a los tres meses de postmaduración el efecto del ambiente de la G2 adquiere mayor importancia que el ambiente de la G1 (Tabla 4C, Información suplementaria), esto se observó en el tamaño del efecto: el ambiente de la G2 mostró un coeficiente más negativo en la respuesta de la progenie (Figura 16). Para estos ecotipos, las semillas de plantas que experimentaron NV germinaron más que las que experimentaron V en la segunda generación, sin importar el ambiente de la primera generación (Figura 15). Para Ömo2-1 en particular, las semillas de plantas que experimentaron V en ambas generaciones presentaron el menor nivel de germinación y no alcanzaron una respuesta similar a las de las otras combinaciones de ambiente.

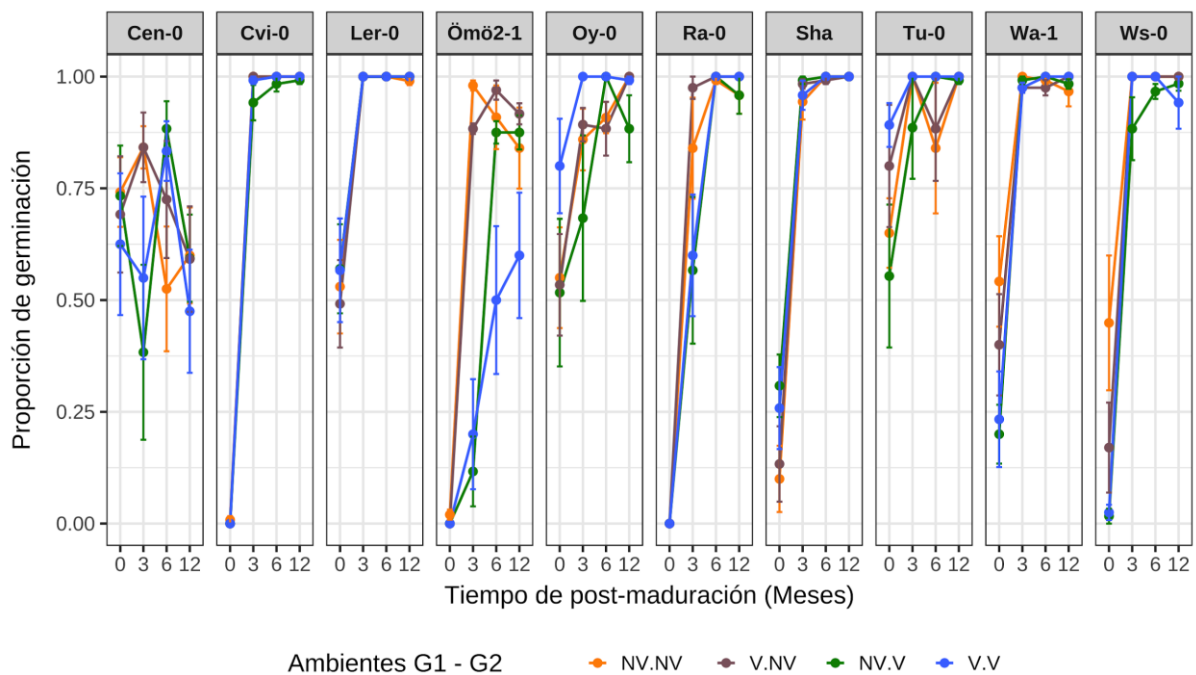


Figura 15. Proporción de germinación de la tercera generación en función del tiempo de postmaduración (0, 3, 6 y 12 meses) para los ecotipos Cen-0, Cvi-0, Ler-0, Ömö2-1, Oy-0, Ra-0, Sha, Tu-0, Wa-1 y Ws-0 (paneles de izquierda a derecha), para las cuatro combinaciones entre G1 y G2: NV-NV (naranja), V-NV (marrón), NV-V (verde) y V-V (azul). Los puntos son los valores de proporción de germinación promedio para cada tiempo luego de la cosecha con su correspondiente error estándar.

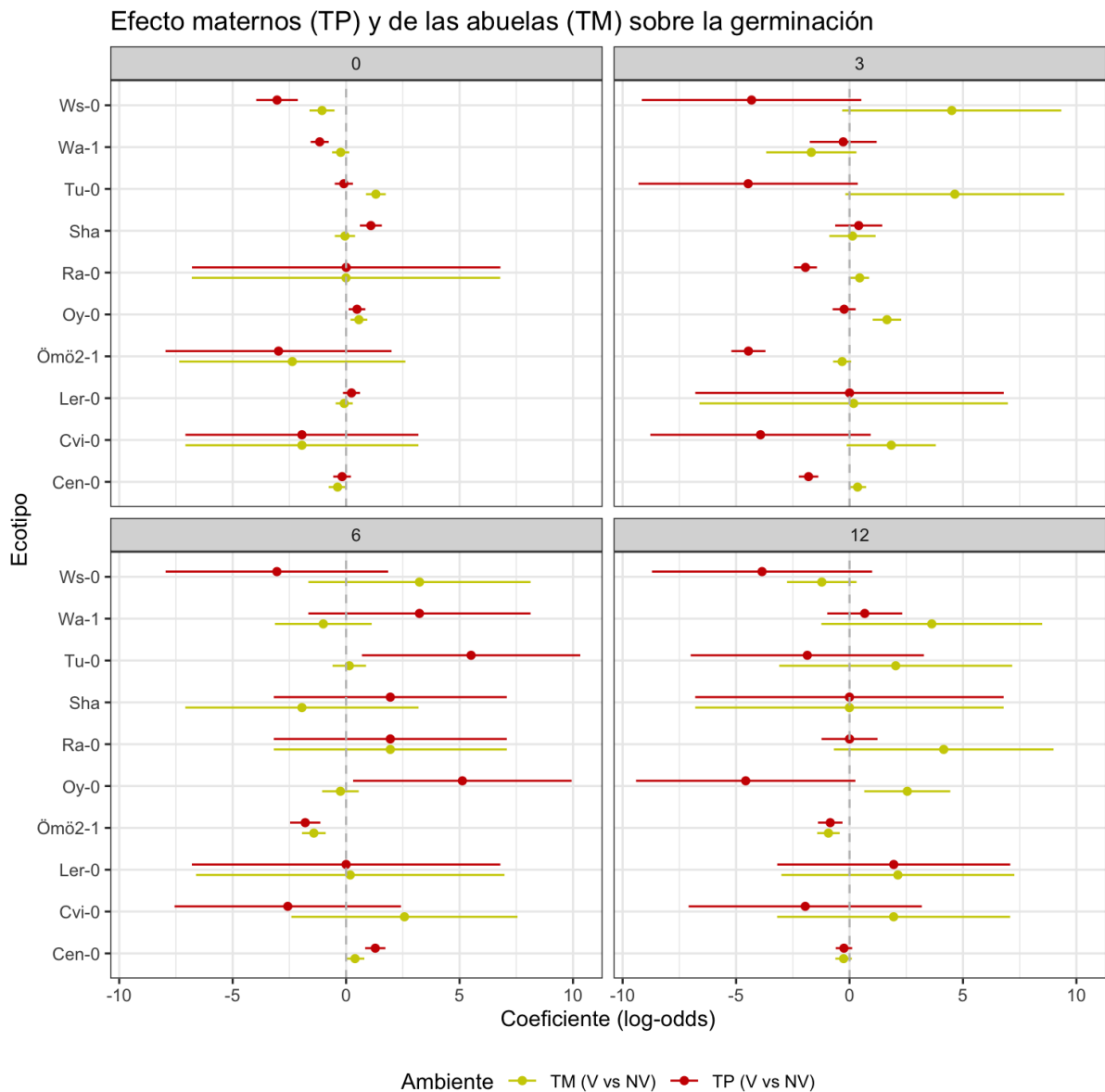


Figura 16. Tamaño y dirección del efecto de los ambientes G1 (TM) y G2 (TP) sobre la germinación de la G3 por ecotipo y tiempo de postmaduración. Cada punto representa el coeficiente estimado en log-odds para el ambiente G1 (TM, amarillo) y el ambiente G2 (TP, rojo) con los intervalos de confianza del 95%.

Efectos maternos sobre la emergencia de plántulas en condiciones naturales

Los tres lotes de semillas caracterizados en los tres años consecutivos, se utilizaron para realizar ensayos de campo donde se exploró la influencia del efecto materno sobre la emergencia de plántulas en condiciones naturales (una estimación de la germinación). Cabe destacar que la región metropolitana de la ciudad de Buenos Aires y sus alrededores son un ambiente novedoso donde la especie no se encuentra en la naturaleza.

Primer año

En el primer ensayo de campo se realizaron dos siembras, una en el otoño dentro del periodo en el que se observa la emergencia de *Arabidopsis* en su rango nativo, y otra en un ambiente

sub-óptimo comenzada la primavera (Figura 17). La primavera alrededor de la fecha de siembra fue más cálida que el periodo de la siembra de otoño (Temperatura promedio de junio = 12°C, temperatura promedio de octubre = 18°C; Servicio Meteorológico Nacional). A su vez, ese año fue particularmente seco, siguiendo un patrón de sequía prolongada en la región. En junio de 2022, la estación meteorológica de Aeroparque Jorge Newbery en Buenos Aires registró 0,0 mm de precipitación, convirtiéndose en el junio más seco desde que se tienen registros (1908–2022, Servicio Meteorológico Nacional). Octubre de ese año siguió el patrón de baja precipitación, prolongando el periodo de sequía en la región.

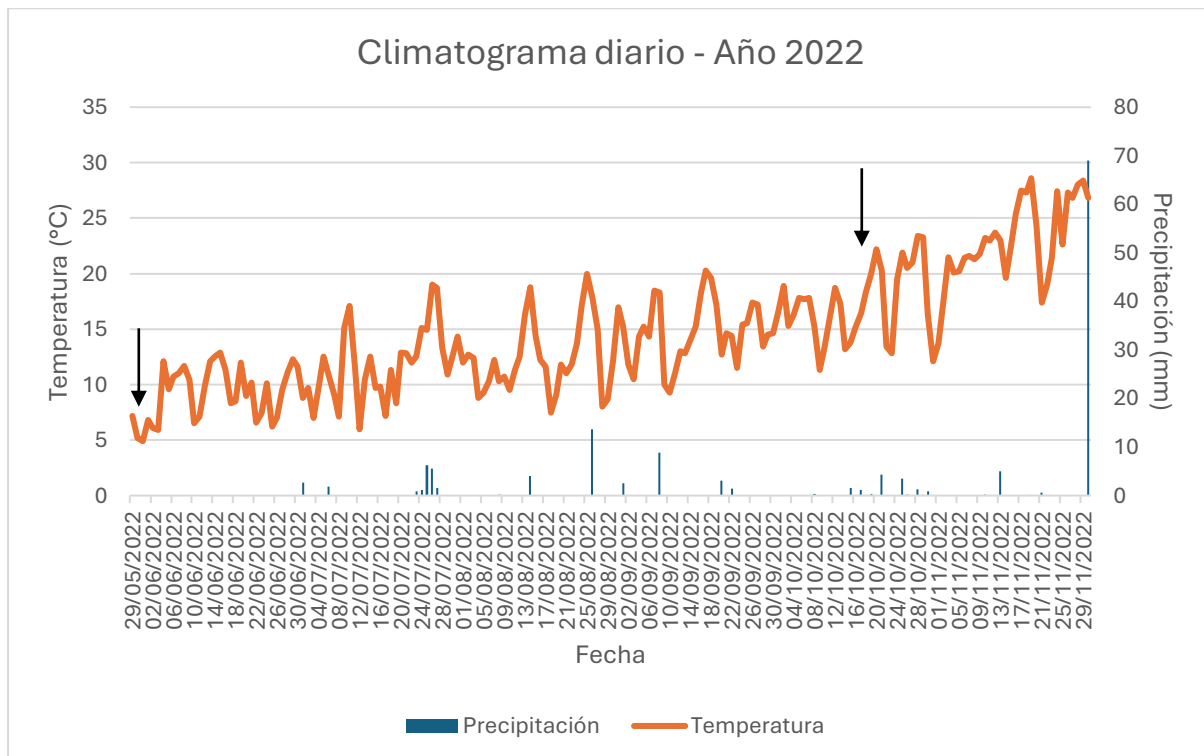


Figura 17. Climatograma diario que muestra la temperatura y la precipitación en el área de estudio durante el período de experimentación en el año 2022. La línea naranja representa la temperatura media diaria (°C), mientras que las barras azules indican la precipitación acumulada diaria (mm). Las flechas indican las fechas de siembra de cada ensayo. Este gráfico permite visualizar la variación térmica y los eventos de lluvia a lo largo del período de estudio.

La emergencia de plántulas luego de la siembra de otoño en el año 2022 fue afectada por el tratamiento materno y el ecotipo (Tabla 5A, Información suplementaria). El patrón de emergencia mostró tres grupos de respuesta (Figura 18). El primer grupo, compuesto por los ecotipos Cen-0, Ler-0 y Wa-1, mostró menor emergencia en semillas provenientes de madres NV con respecto a semillas que provienen de madres V; el segundo grupo mostró alta germinación en ambos casos (Sha y Tu-0); y el tercer grupo (Cvi-0, Oy-0, Ra-0, Ömo2-1 y Ws-0) mostró el patrón contrario al primero: la proporción de emergencia es mayor para aquellas semillas que provienen de madres NV. Sin embargo, todos los ecotipos mostraron un efecto significativo del tratamiento materno (Tabla 5B, Información suplementaria). En todos los casos se observó una alta proporción de emergencia, lo que sugiere que más del 50% de las semillas germinaron en el campo.

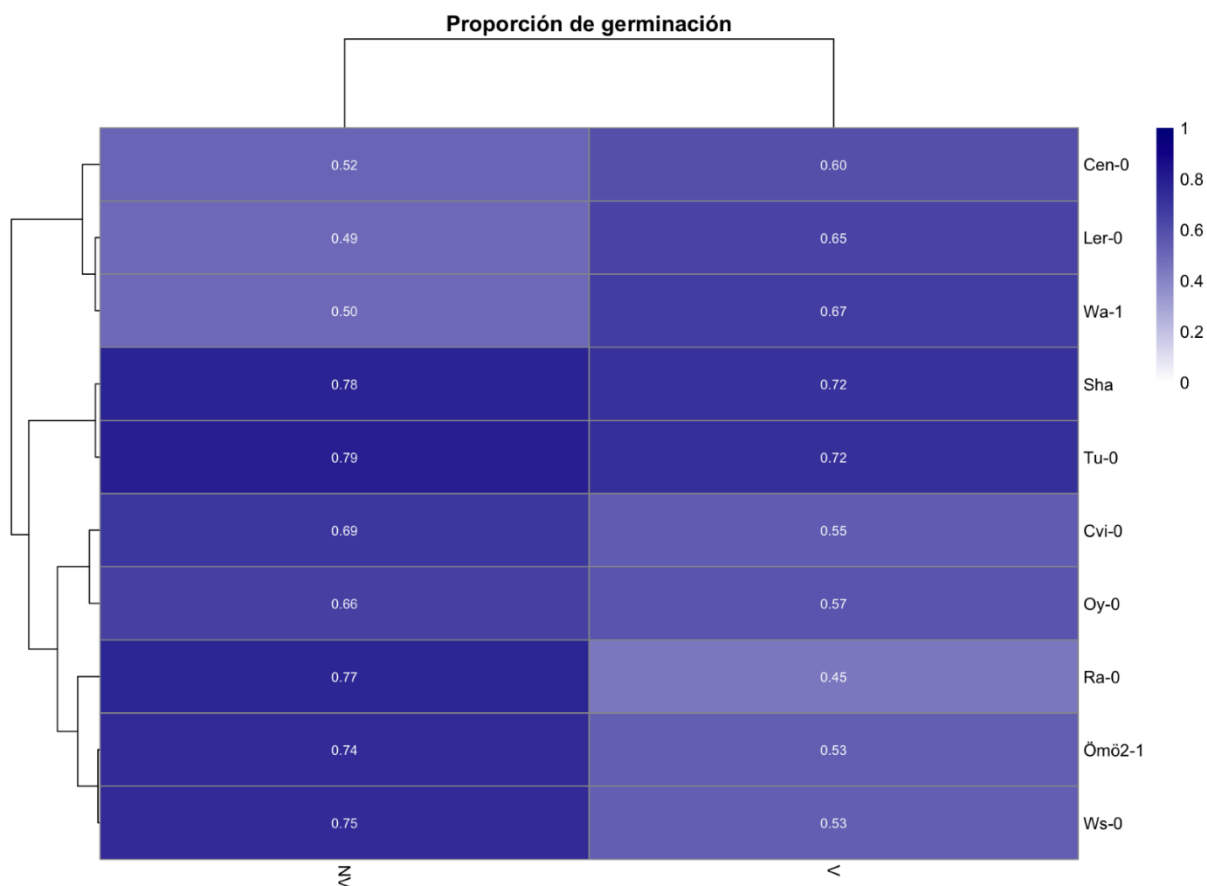


Figura 18. Mapa de calor y dendrograma de la proporción de emergencia para los 10 ecotipos durante el otoño de 2022. Las filas representan ecotipos y las columnas tratamientos (izquierda, NV; derecha, V). Los colores van de blanco (baja proporción) a azul (alta proporción). Los valores dentro de las celdas indican la proporción media de emergencia.

En la segunda siembra (primavera), la emergencia para todos los ecotipos y tratamientos no se observó durante los conteos, impidiendo un análisis adecuado de los datos. Esto indica que la germinación a campo luego de esta siembra fue prácticamente nula o que el establecimiento de las plántulas fue arrestado (ver sección Supervivencia, Capítulo II).

Segundo año

En el siguiente año, el perfil ambiental difirió notablemente del de 2022 con una mayor incidencia de precipitaciones en el área (Figura 19). Las temperaturas medias en cada mes de siembra fueron: mayo = 15.3°C, junio = 11.7°C, septiembre = 13.9°C, octubre = 16.6°C, estas temperaturas reflejan la llegada del otoño-invierno con un descenso de temperatura media y también el comienzo de la primavera con un aumento de la temperatura promedio. En general, las precipitaciones fueron bastante abundantes durante todo el ensayo con picos de más de 70 mm diarios. Las precipitaciones fueron irregulares, con importantes acumulaciones en algunos meses y escasa o nula lluvia en otros. Mayo fue el mes más lluvioso del período, con un notable pico el día 25 (87 mm), seguido por noviembre y agosto, que presentaron varias lluvias significativas. En contraste, los meses de junio y julio fueron marcadamente secos, con precipitaciones escasas y aisladas.

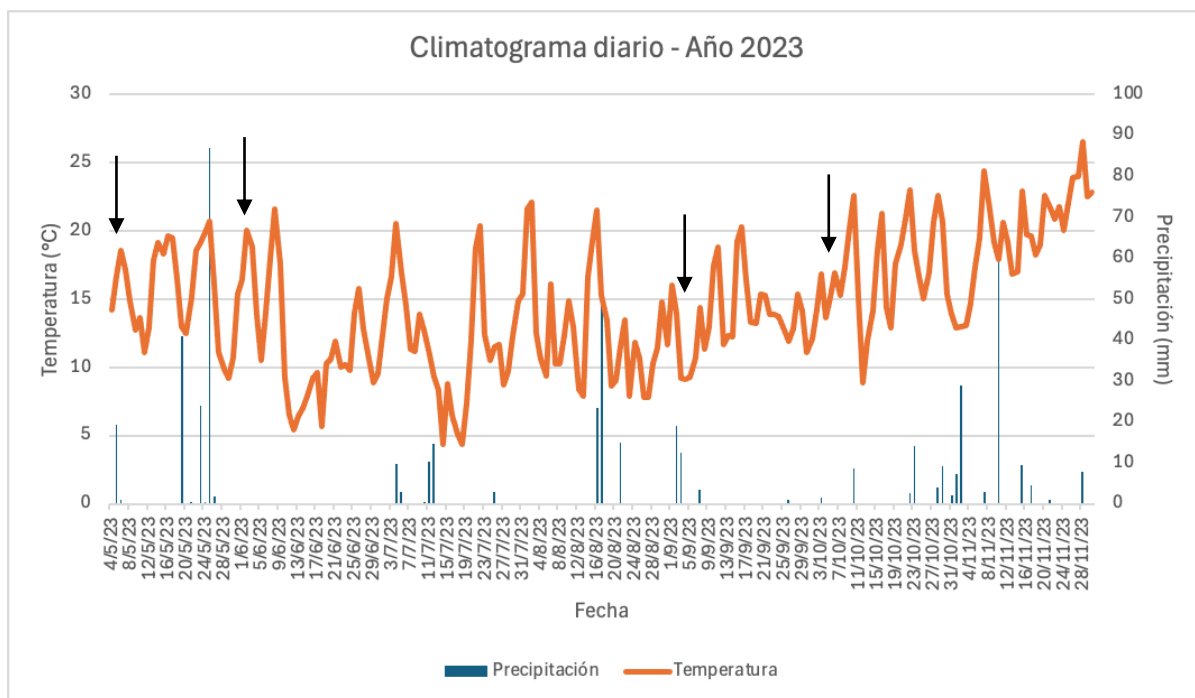


Figura 19. Climatograma diario que muestra la temperatura y la precipitación en el área de estudio durante el período de experimentación en el año 2023. La línea naranja representa la temperatura media diaria (°C), mientras que las barras indican la precipitación acumulada diaria (mm). Las flechas indican las fechas de siembra de cada ensayo. Este gráfico permite visualizar la variación térmica y los eventos de lluvia a lo largo del período de estudio.

En todas las fechas de siembra, el tratamiento materno y el ecotipo afectaron la emergencia de plántulas en el campo (Tablas 6A, 7A, 8A y 9A; Información suplementaria). En general, para el año 2023 en las dos siembras de otoño se observó menor proporción de emergencia que en 2022. Sin embargo, para la primera siembra de otoño del año 2023 (Figura 20, panel izquierdo superior), la proporción de emergencia mostró también tres grupos de comportamiento. Un primer grupo compuesto por Ra-0, Ws-0, Cvi-0 y Öm2-1 que muestran una muy baja proporción de emergencia para los dos tratamientos maternos. Otro grupo compuesto por Cen-0, Ler-0, Sha y Wa-1 que mostró baja emergencia cuando las semillas provienen de madres NV comparado con las de madres V. Por último, un tercer grupo compuesto por Oy-0 y Tu-0 en el que se observó que la proporción de emergencia fue alta para semillas de ambos tratamientos maternos (aunque Tu-0 mostró una leve mayor proporción de emergencia para NV). Las respuestas fueron significativas para Cen-0, Tu-0 y Sha (Tabla 6B, Información suplementaria).

Para la segunda siembra de otoño (Tabla 7B, Información suplementaria; Figura 20, panel derecho superior) se detectaron dos grandes grupos de respuesta. En primer lugar, los ecotipos que no mostraron emergencia de plántulas independientemente del tratamiento materno, estos fueron: Ws-0, Ra-0, Cvi-0 y Öm2-1. El otro grupo se puede dividir en dos: uno en el cual la emergencia fue moderada y sin diferencias entre tratamientos maternos (Oy-0, Sha, Ler-0 y Tu-0), y otro en el cual las semillas que provinieron de madres V presentaron menor emergencia (Cen-0 y Wa-1).

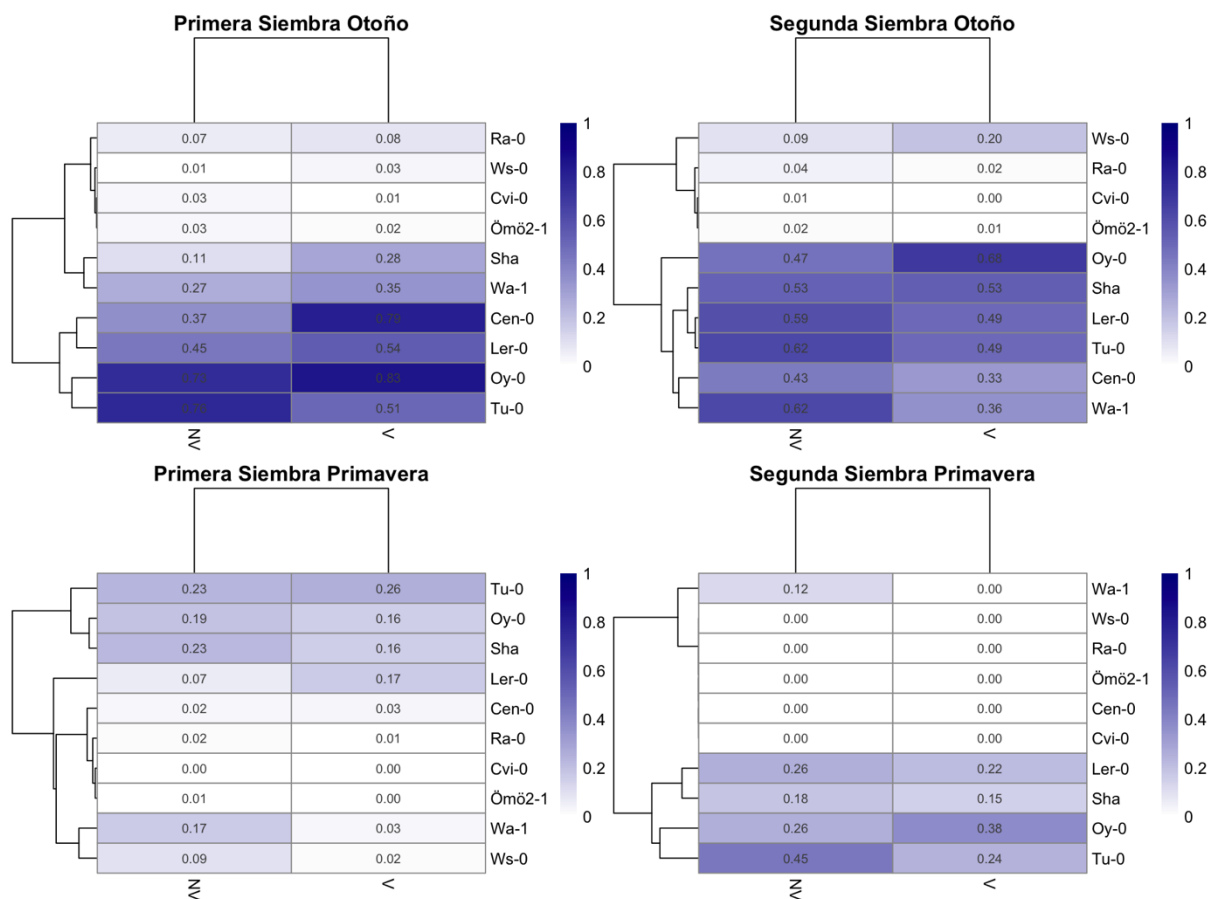


Figura 20. Mapas de calor y dendrogramas de la proporción de emergencia dentro de un mismo período de siembra para los 10 ecotipos en estudio durante las cuatro siembras del año 2023. Las filas representan ecotipos y las columnas tratamientos (izquierda, NV; derecha, V). Los colores van de blanco (baja proporción) a azul (alta proporción). Los valores dentro de las celdas indican la proporción media de emergencia. Panel izquierdo, arriba: primera siembra otoño; panel derecho, arriba: segunda siembra otoño; panel izquierdo, abajo: primera siembra primavera; panel derecho, abajo: segunda siembra primavera.

En ambas siembras de otoño, los ecotipos que mostraron emergencia baja o nula fueron los mismos (Cvi-0, Öm62-1, Ra-0 y Ws-0), lo que indica un fuerte efecto del componente genético más allá del ambiente de la generación anterior y el ambiente de las propias semillas (Figura 20). Además, las semillas de estos ecotipos mostraron alta dormición en los ensayos de germinación en condiciones controladas, lo que confirma la respuesta a campo (Figura 11). El resto de los ecotipos (Cen-0, Ler-0, Oy-0, Tu-0 y Wa-1), con excepción de Sha, mostraron algún grado de germinación en placa a tiempo cero de postmaduración (Figura 11) y también emergieron en las siembras de otoño (Figura 20, paneles superiores).

Al comparar las fechas de siembra de otoño 2023 (Figura 21), el análisis mostró un efecto combinado de las fechas de siembra, los tratamientos maternos y el ecotipo sobre la emergencia de la progenie ($\chi^2 = 43,00$; g.l. = 9; p-valor < 0,001) indicando que existe una respuesta de la descendencia al ambiente de la generación anterior y que esta respuesta depende del ecotipo y del ambiente de la semilla (la fecha de siembra).

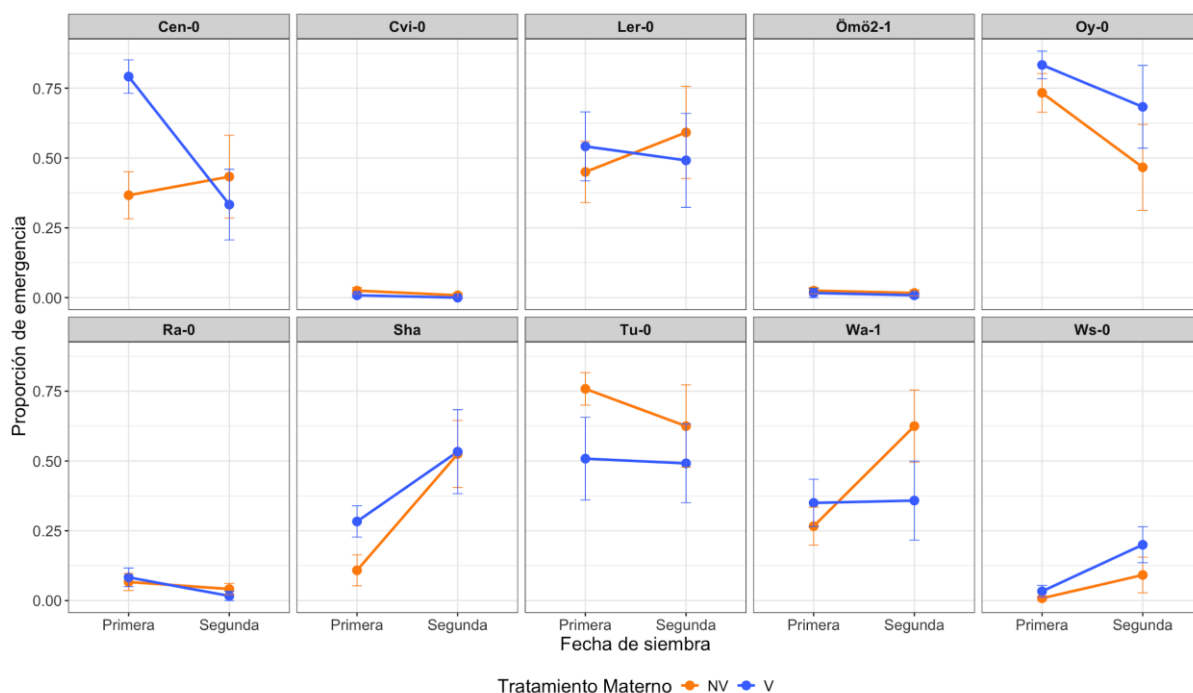


Figura 21. Comparación entre fechas de siembra de otoño 1 y 2 de 2023, normas de reacción. Proporción de emergencia de la progenie en el eje y, fechas de siembra en el eje x. Los paneles muestran los ecotipos. Los colores indican los tratamientos maternos: NV, naranja; V, azul.

Al igual que sucedió en el año 2022, en las siembras de primavera de 2023 la proporción de emergencia fue muy baja en general (Tablas: 8A, 8B, 9A y 9B; Información suplementaria; Figura 20, paneles inferiores). Estos resultados son esperables dado que *Arabidopsis* es una planta anual de invierno que germina a principios del otoño. En particular, tanto para la primera como para la segunda siembra, los ecotipos que emergieron fueron Ler-0, Sha, Oy-0 y Tu-0 para ambos tratamientos maternos, indicando un efecto del ecotipo que podría estar enmascarando los efectos maternos, dado que también emergieron en las siembras de otoño (Figura 20, paneles superiores) y algunos de ellos también en placa (Figura 11, Ler-0, Oy-0 y Tu-0).

Tercer año: interacción entre efectos maternos de temperatura y la homeostasis de metilación del ADN

En el año 2024 debido a lo observado en la respuesta de emergencia de plántulas de las siembras de primavera de los años anteriores, se decidió no sembrar en esa estación. Sin embargo, se agregó un tratamiento químico (solución de 5-Azacidina) a las plantas madre que modifica el nivel global de metilación del ADN en el genoma. De esta manera, se pretendió explorar la influencia de la homeostasis de metilación sobre la percepción y respuesta al estímulo ambiental en condiciones naturales.

En cuanto a las condiciones ambientales, mayo fue el mes más seco del período, con apenas 1,3 mm de precipitación total y una temperatura promedio mensual de 14,4 °C (Figura 22). En junio, las lluvias aumentaron a 42,1 mm, con una temperatura promedio mensual de 9,8 °C. Julio fue el mes más frío, con una temperatura promedio de 9,2 °C y escasas precipitaciones (7,7 mm). En agosto, las temperaturas comenzaron a ascender ligeramente, alcanzando un

promedio de 11,2 °C, mientras que las lluvias aumentaron de forma considerable a 120,2 mm, siendo el mes más lluvioso del período. Septiembre mostró un descenso en las precipitaciones (15,2 mm) y un incremento térmico, con una temperatura media de 15,1 °C. En conjunto, estos datos reflejan un aumento progresivo de la temperatura hacia la primavera y una marcada variabilidad en el régimen de precipitaciones.

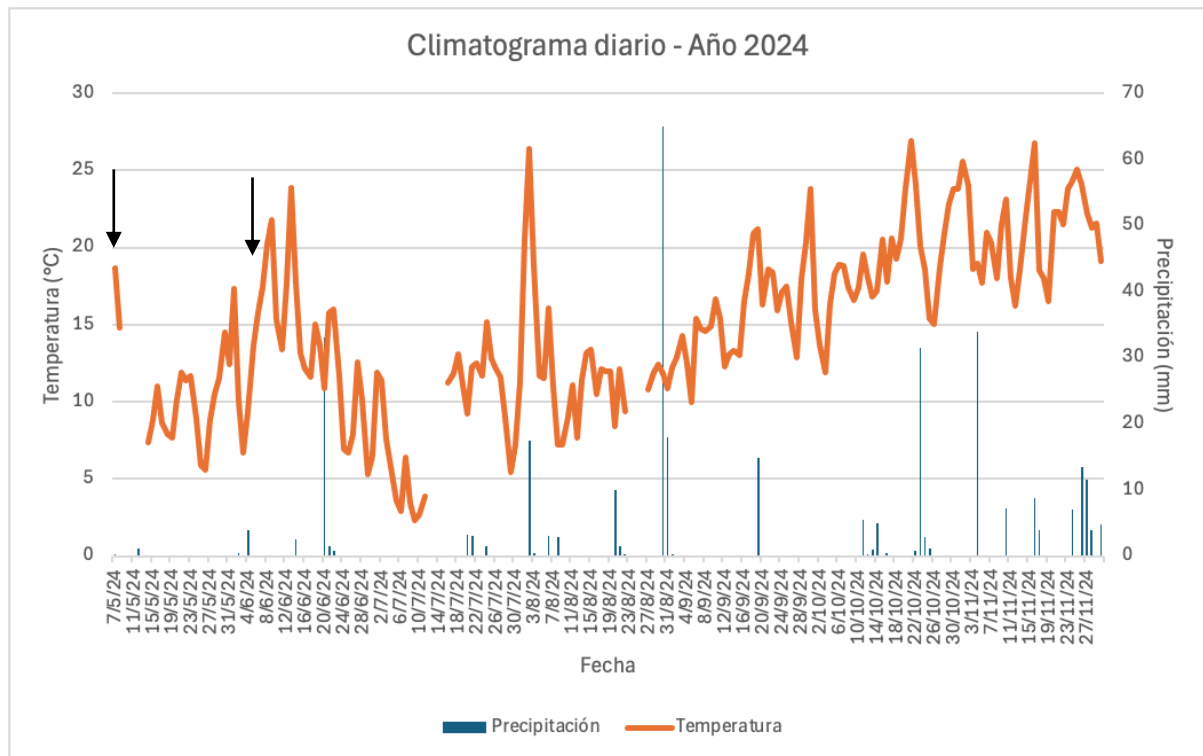


Figura 22. Climatograma diario que muestra la temperatura y la precipitación en el área de estudio durante el período de experimentación en el año 2024. La línea naranja representa la temperatura media diaria (°C), mientras que las barras indican la precipitación acumulada diaria (mm). Las flechas indican las fechas de siembra de cada ensayo. Este gráfico permite visualizar la variación térmica y los eventos de lluvia a lo largo del período de estudio.

En ambas fechas de siembra (Figura 23), la respuesta de emergencia fue afectada por el tratamiento materno de temperatura, el tratamiento químico de Aza y el ecotipo (10A y 11A, Información suplementaria). Esto indica que algún ecotipo muestra respuesta al tratamiento de vernalización dependiente de la homeostasis de metilación del ADN.

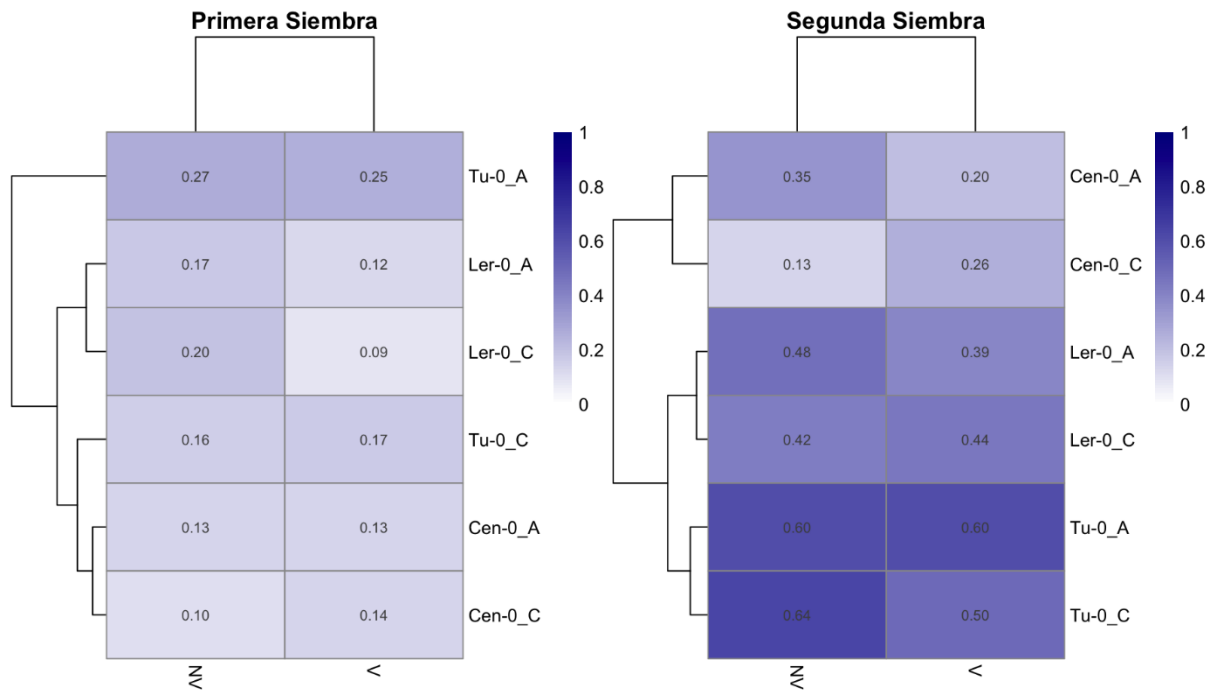


Figura 23. Mapa de calor y dendrograma de la proporción de emergencia para los tres ecotipos en estudio durante el 2024: Ler-0, Cen-0 y Tu-0. Las filas representan los ecotipos y los tratamientos de Aza-Control (A-C) y las columnas tratamientos de temperatura (izquierda, No Vernalizadas; derecha, Vernalizadas; dentro de cada panel). Los colores van de blanco a azul (baja a alta proporción de emergencia de plántulas, respectivamente). Los valores dentro de las celdas indican la proporción media de emergencia.

En la primera siembra de otoño del año 2024, la emergencia fue muy baja en todos los casos (Figura 23, panel izquierdo). Sin embargo, el análisis estadístico mostró diferencias significativas en la triple interacción entre el ecotipo y los tratamientos maternos de vernalización y Aza (Tabla 10A, Información suplementaria). Al estudiar en profundidad estas diferencias, se encontró que los ecotipos Ler-0 y Cen-0 respondieron a ambos tratamientos maternos (Tabla 10B, Información suplementaria). En el caso de Ler-0, la emergencia fue mayor para semillas provenientes de madres NV-C y la menor emergencia fue para semillas provenientes de madres V-C. Para Cen-0 se observó el patrón contrario, la emergencia fue menor para semillas de madres NV-C y mayor para semillas de madres V-C. Ambos ecotipos no mostraron diferencias entre V-Aza y NV-Aza. Para la segunda siembra de otoño del año 2024 (Figura 23, panel derecho) se observó una triple interacción significativa Ecotipo x Tratamiento Vernalización x Tratamiento Aza (Tabla 11A, Información suplementaria) indicando que, para al menos uno de los ecotipos, hay un efecto de la vernalización y la Aza combinados. En esta siembra, los tres ecotipos mostraron diferencias significativas en la interacción entre ambos tratamientos maternos (Tabla 11B, Información suplementaria). Es destacable el comportamiento de Cen-0 que mostró patrones opuestos de emergencia: la emergencia fue baja cuando los tratamientos maternos fueron NV-C y también fue baja cuando los tratamientos maternos fueron V-Aza. Estos resultados sugieren que el tratamiento químico puede afectar la respuesta al ambiente de la generación anterior, indicando un posible rol de la metilación del ADN en los efectos transgeneracionales en la naturaleza.

Discusión

Contrastes de respuestas en condiciones controladas y de campo

La dormición de las semillas se establece durante la maduración de las mismas dentro de la planta madre (MacGregor et al., 2015). Más aún, en *Arabidopsis thaliana*, las bajas temperaturas durante la maduración generan semillas dormidas y, además, la probabilidad de germinación está determinada por la interacción entre el ecotipo, el tratamiento materno, el tiempo de postmaduración y el ambiente de la semilla (Burghardt et al., 2016). En específico, las bajas temperaturas maternas pueden afectar la germinación favoreciéndola (G. A. Auge, Blair, et al., 2017) o provocando la dormición de las semillas (Edwards et al., 2016) dependiendo del momento en el que la señal ambiental materna ocurre (Authier et al., 2023). Los resultados obtenidos en condiciones controladas indicaron que los efectos maternos de temperatura y de Aza tuvieron una influencia en la proporción de germinación de la progenie (Tablas 1A, 2A, 3A y 4A, Información suplementaria). Los ecotipos de *Arabidopsis thaliana* utilizados durante esta tesis mostraron respuestas variables al ambiente materno que además se modificaron a medida que transcurrió el tiempo de postmaduración (Figuras 9, 10, 11, 12, 13 y 14).

En condiciones naturales la respuesta fue variable entre años: para el primer año la emergencia fue alta para todos los ecotipos y tratamientos maternos durante la siembra de otoño (Figura 18), mientras que en primavera no se registró emergencia. Para el segundo año la respuesta fue dependiente del ecotipo: algunos ecotipos emergieron y otros no, también con diferencias entre otoño y primavera (la emergencia fue mayor en otoño, Figura 20). Por último, para el tercer año hubo diferencias entre las siembras de otoño (la primera siembra mostró menor emergencia, Figura 23). La variabilidad interanual reflejó una compleja interacción entre el ambiente materno, el ecotipo y el ambiente de la semilla en condiciones naturales (Tablas 5A, 6A, 7A, 8A, 9A, 10A y 11A). Este tipo de interacción compleja puede restringir la expresión de plasticidad transgeneracional adaptativa (Bonduriansky, 2021). Sin embargo, las respuestas dependieron fuertemente de la variabilidad genética.

La vernalización de la planta madre aumenta la germinación de las semillas, perdiendo dormición más rápido con el tiempo de postmaduración (G. A. Auge, Blair, et al., 2017). En el ensayo del primer año en condiciones controladas (Figura 1B), la respuesta de las semillas frescas mostró una influencia del ambiente materno para todos los ecotipos, menos para Ra-0 (para el cual la germinación fue nula). Sin embargo, es destacable el comportamiento de los ecotipos Oy-0, Sha y Wa-1 para los cuales se observó mayor proporción de germinación en semillas que provenían de madres no vernalizadas, incluso en etapas tempranas de postmaduración. Esta tendencia también se mantuvo en Sha y Oy-0 durante los 6 y 12 meses de post-maduración, sugiriendo que la señal de frío materna no siempre promueve la germinación y que su efecto depende del ecotipo. Los ecotipos nórdicos como Oy-0 en general presentan baja dormición para promover la germinación rápidamente luego de la dispersión de las semillas. Esto es una estrategia adaptativa ya que el periodo de crecimiento es corto, entonces las semillas deben germinar rápido antes de la llegada del invierno. Ömö2-1 es una excepción que presenta alta dormición (lo que impide además la detección de efectos maternos)

y, si bien la distancia genética con Oy-0 es baja (Atwell et al., 2010), muestra además un fuerte requerimiento de vernalización. Por otro lado, ecotipos como Ler-0 y Tu-0 mostraron una respuesta consistente a la vernalización con mayor germinación en progenie de madres vernalizadas, especialmente en etapas avanzadas de postmaduración. En ecotipos como Cen-0 y Öm2-1 la respuesta fue más variable entre años indicando una interacción compleja entre ambiente materno, ecotipo y tiempo de postmaduración. Estos resultados se alinean con lo propuesto previamente (G. A. Auge, Leverett, et al., 2017) donde se propone que los efectos maternos no son uniformes y la plasticidad en la respuesta de germinación puede estar modulada de forma compleja por la historia ambiental de la madre y el tiempo que pasó desde la dispersión de las semillas (Bonduriansky, 2021).

La comparación entre los resultados obtenidos en condiciones controladas y los ensayos de campo realizados en 2023 revelaron patrones de respuesta diferenciados entre ecotipos (Figuras 11 y 20). Por un lado, Ra-0 y Tu-0 mostraron una mayor germinación en semillas provenientes de madres no vernalizadas. Estos patrones se reflejaron parcialmente en el campo, Tu-0 presentó emergencia relativamente alta en todos los ensayos, con diferencias entre progenie de madres NV que germinó más que la de madres V. Por otro lado, Ra-0 mostró baja germinación en el laboratorio a tiempo cero de postmaduración y también presentó valores bajos de emergencia en el campo, lo que podría indicar una dormición profunda que limita la expresión de los efectos maternos observados en condiciones controladas. En este mismo año, Ler-0 y Öm2-1 respondieron positivamente a la vernalización materna en condiciones controladas. Sin embargo, mostraron proporciones de emergencia intermedia en el campo, con variabilidad entre estaciones en la expresión del efecto materno (especialmente Ler-0).

Ecotipos como Wa-1, Sha y Ws-0 mostraron respuestas contradictorias entre ambientes. En el laboratorio, Wa-1 tuvo mayor germinación en progenie de madres V, mientras que en el campo sus valores fueron más bajos y variables: emergieron más las semillas de madres NV. Sha mostró una respuesta positiva al tratamiento de NV en el laboratorio, pero en el campo la emergencia fue variable: en otoño emergió más la progenie de madres V mientras que en primavera emergió más la progenie de madres NV (igual que en el laboratorio). Ws-0, que respondió positivamente a la V en el laboratorio, mostró una emergencia baja en el campo que permitió ver diferencias entre tratamientos maternos sólo en la segunda fecha de siembra (Figura 20).

Finalmente, ecotipos como Cvi-0, Oy-0 y Cen-0 presentaron respuestas más consistentes entre ambientes. Cvi-0 con baja germinación en el laboratorio, mostró valores bajos de emergencia a campo. Oy-0, el cual en el laboratorio respondió negativamente a la V, mostró también emergencia baja en el campo para la progenie de madres V. Cen-0, para el que germinaron más las semillas de madres NV en el laboratorio, tuvo una respuesta variable en el campo: para la primera siembra de otoño el tratamiento de V tuvo mayor emergencia mientras que en la segunda siembra emergieron más las semillas de madres NV, y en primavera mostró una baja emergencia en el campo en general (Figura 20).

En condiciones naturales durante 2024, los ecotipos Tu-0, Ler-0 y Cen-0 mostraron diferencias en la proporción de emergencia según los tratamientos maternos de temperatura y Azacitidina y el momento de siembra, indicando que la eliminación de marcas epigenéticas y la temperatura

tienen un efecto conjunto sobre los ecotipos en estudio (Figura 23). En la primera siembra las proporciones fueron bajas para todos los tratamientos mientras que en la segunda siembra se observó un aumento generalizado de la emergencia. Este incremento sugiere que las condiciones ambientales al momento de la segunda siembra fueron más favorables para la emergencia, posiblemente por una sincronización entre la pérdida de dormición y las condiciones de temperatura y humedad del suelo, indicando que el ambiente más inmediato es determinante en la respuesta en estadios tempranos del desarrollo (Figura 22). Al comparar estos resultados con los obtenidos en condiciones controladas para el mismo año, se observó que Tu-0 y Ler-0 presentaron una mayor emergencia en progenie de madres NV (Figura 13). En Cen-0 en cambio, la germinación fue mayor en semillas provenientes de madres vernalizadas (Figura 13). Esta divergencia entre ambientes sugiere que los efectos maternos no se expresan de manera uniforme en el campo y que la interacción con las condiciones ambientales naturales puede modificar o incluso contrarrestar los patrones observados en el laboratorio.

Desde una perspectiva ecológica, estas diferencias en la respuesta germinativa pueden reflejar estrategias adaptativas vinculadas al ambiente de origen de cada ecotipo (Donohue et al., 2010). Esto sugiere una restricción de la plasticidad en respuesta al ambiente materno por la variación entre ecotipos debida a la variación genética. Una mayor germinación en progenie de madres NV podría estar asociada a ambientes donde las señales de frío no son predictivas de condiciones favorables para el establecimiento, favoreciendo una estrategia oportunista. Por el contrario, ecotipos que responden a la V podrían provenir de ambientes donde el invierno marca una pausa en el ciclo de vida y la primavera representa una ventana óptima de condiciones ambientales para la germinación (G. A. Auge, Blair, et al., 2017). Sin embargo, la emergencia de plántulas observada en los dos primeros años de ensayos de campo en las siembras de primavera fue baja, lo que sugiere que aún para ecotipos de ciclado rápido con ocurrencia de ciclos de vida de verano, las condiciones heterogéneas de nuestro sitio de campo son restrictivas (Figura 20). Además, la modificación de las respuestas con el tiempo de postmaduración sugiere que la dormición no es un estado fijo, más bien es un proceso dinámico y esta plasticidad en la respuesta germinativa podría ser clave para enfrentar ambientes impredecibles y asegurar la persistencia poblacional (Donohue et al., 2010). Esto debería ser testado con la siembra de semillas postmaduradas en el campo.

La capacidad de ajustar la germinación según señales tanto maternas como del ambiente inmediato permitiría a las poblaciones maximizar el éxito de establecimiento en distintos contextos. Además, la variabilidad entre ecotipos refuerza la idea de que *Arabidopsis thaliana* posee una diversidad genética que permite explorar distintas estrategias de germinación, desde respuestas más conservadoras hasta otras más oportunistas, dependiendo del ambiente de origen y del contexto de desarrollo.

Combinación de alelos FRI y FLC, y relación con otros genes de dormición, sobre efectos transgeneracionales

La germinación de semillas de *Arabidopsis thaliana* está regulada por una compleja red genética y ambiental, en la que los genes *FLOWERING LOCUS C (FLC)* y *FRIGIDA (FRI)*

desempeñan un papel central (G. A. Auge, Blair, et al., 2017; Blair et al., 2017; Chiang et al., 2009). La combinación de *FLC* y *FRI* funcionales presente en los ecotipos Cen-0, Cvi-0, Öm2-1 y Ws-0, está asociada con una baja germinación (Tabla 1). Lo esperable con *FLC* funcional es que las semillas germinaran más; sin embargo, trabajos previos reportan que en ecotipos con una profunda dormición, un *FLC* funcional no es suficiente para promover la germinación (Blair et al., 2017). Ecotipos con *FLC* y *FRI* no funcionales (Ler-0 y Oy-0) mostraron respuestas divergentes; por un lado, Ler-0 tuvo una germinación alta mientras que Oy-0 mostró germinación baja, estos resultados podrían explicarse con el nivel de dormición probablemente relacionado al alelo del gen *DOG1* (*DELAY OF GERMINATION1*, (Bentsink et al., 2006)). Ler-0 es un ecotipo con dormición superficial (alelo de *DOG1* no funcional) y sin requerimientos de vernalización, lo que en suma explica su respuesta. Los ecotipos con *FRI* funcional, pero *FLC* no funcional, Wa-1, Sha y Tu-0 mostraron baja germinación en el laboratorio (Figuras 9, 11 y 13), pero en el campo las semillas de madres NV germinaron más que las de madres V (Figuras 18, 20 y 23). En este caso, la presencia de *FRI* funcional podría estar reduciendo la germinación en semillas de madres V (G. A. Auge, Blair, et al., 2017). Por último, el ecotipo con *FRI* no funcional, pero *FLC* funcional Ra-0, mostró una baja germinación en el campo y en el laboratorio lo que sugiere que la expresión de *FLC* es insuficiente para la promoción de la germinación, probablemente por ser un alelo débil (este ecotipo no presenta requerimiento de vernalización para florecer).

El ambiente más inmediato es determinante en la respuesta (condiciones controladas y en campo).

Nuestros resultados mostraron que los efectos transgeneracionales sobre la germinación dependen de la combinación de ambientes experimentados por generaciones consecutivas y del ecotipo (Figura 15). En particular, se observó que el ambiente de la segunda generación tuvo un mayor efecto sobre la germinación de una tercera generación de semillas que el ambiente de la primera generación, especialmente en los ecotipos Cen-0 y Öm2-1 (Figura 16). A los tres meses de postmaduración, el ambiente de la segunda generación tuvo un coeficiente más negativo en la respuesta de germinación cuando las plantas madre experimentaron vernalización, independientemente del ambiente de la primera generación (Figura 16). Esta evidencia coincide con los datos reportados previamente donde las transiciones fenológicas tempranas, como la germinación, son altamente sensibles a las condiciones ambientales inmediatas (Donohue et al., 2010; Gray & Brady, 2016; Taylor et al., 2017). La germinación no sólo determina el ambiente ecológico que la planta enfrentará en el futuro, además modula la expresión fenotípica de caracteres como el tiempo a floración y la longevidad (D'Aguillo & Donohue, 2023). En este sentido, los resultados obtenidos refuerzan el concepto de que la plasticidad transgeneracional puede actuar como un mecanismo adaptativo cuando el ambiente materno predice el ambiente de la progenie (Lampe et al., 2017; Lukić et al., 2023).

La mayor germinación en progenie de madres NV, sin importar el ambiente de la primera generación, indica que el ambiente anterior de NV es una señal ambiental que genera que la progenie esté menos dormida evidenciando una interacción ecotipo-ambiente que podría estar vinculada a la regulación de *FLC* a través de mecanismos epigenéticos (Chen et al., 2014; Chen & Penfield, 2018). La sensibilidad diferencial a la V materna entre ecotipos refuerza la

evidencia de que la adaptación local y la historia evolutiva de cada ecotipo modulan la expresión de caracteres tempranos del ciclo de vida (G. Auge et al., 2023; He et al., 2014).

Regulación de la germinación y dormición de la progenie a través de la metilación del ADN

La metilación del ADN en la 5° posición de la base Citosina es un mecanismo por el cual puede regularse la expresión de genes, el *imprinting* del genoma y el silenciamiento de transposones (Xie et al., 2025). El mecanismo de metilación del ADN dirigido por ARN (*RNA-directed DNA Methylation*, RdDM) es una importante vía epigenética en las plantas por la cual se establece la metilación del ADN (Iwasaki et al., 2022; Xie et al. 2025). La vía no canónica de este mecanismo está involucrada en el control materno de la dormición: la señal materna de frío durante el desarrollo y maduración de las semillas induce la metilación del transposon *ATHPOGONI* que se encuentra en la región promotora del gen *ALN*, un regulador negativo de la dormición, reprimiendo así su expresión (Iwasaki et al., 2019).

En cuanto a los resultados obtenidos para la germinación cuando las plantas madre fueron tratadas con Aza, las semillas de la progenie de los ecotipos Tu-0 y Cen-0 NV germinaron más (Figura 13). De este modo, la reducción de la dormición debida a una baja en la frecuencia de metilación inducida con Aza indica que la correcta homeostasis de metilación es necesaria para la expresión de los efectos fenotípicos en estos ecotipos. Esto va en línea con estudios previos que muestran que el mutante *ago4* germina más que el control salvaje, especialmente cuando hay variación en el ambiente experimentado por la planta madre antes de floración (Authier et al., 2021). Por otra parte, las semillas de la progenie del ecotipo Ler-0 V germinaron menos cuando las plantas madre se trataron con Aza (Figura 13). Este efecto opuesto al de los otros ecotipos puede ser debido a diferencias técnicas en el tratamiento durante el ensayo o en la regulación de variantes alélicas de genes clave de dormición y germinación. En este sentido, ha sido reportado que la variación natural en el gen *CHROMOMETHYLASE2 (CMT2)* está fuertemente asociada con la estacionalidad de la temperatura: el alelo de referencia predomina en áreas con menor variabilidad estacional de la temperatura mientras que el alelo alternativo se encuentra en regiones estables y variables (Shen et al. 2014). CMT2 es una metiltransferasa de ADN que junto con CMT3 es responsable del mantenimiento de la metilación CHH y CHG, respectivamente (Iwasaki et al., 2019, 2022; Xie et al., 2025). Los ecotipos que portan el alelo alternativo muestran una reducción en la metilación en el contexto CHH. Además, mutantes de *cmt2* toleraron mejor el calor que las plantas con *CMT2* funcional (Shen et al., 2014). Esta evidencia sugiere que la regulación de las modificaciones epigenéticas está involucrada en la adaptación natural a la temperatura.

En el campo, Tu-0 (adaptado a ambientes con una marcada estacionalidad) mostró igual proporción de emergencia para la progenie de madres V y NV cuando el otro tratamiento fue Aza (Figura 23), indicando que el efecto de este químico enmascararía la respuesta al ambiente materno que podría ser mediada por CMT2, favoreciendo de esta manera la emergencia. Cen-0 emergió más cuando el tratamiento materno fue la combinación NV-Aza y menos cuando fue NV-C, en este caso la Aza podría estar eliminando el silenciamiento del gen *ALN* que está asociado con la inducción de la germinación. Por otro lado, Ler-0 es un ecotipo adaptado a

ambientes con una baja estacionalidad y los resultados obtenidos en esta tesis muestran una interacción entre los tratamientos maternos que además conducen a respuestas diferentes de acuerdo con la fecha de siembra (Figura 23). En este caso, la variación en la metilación del genoma favorece la expresión de los efectos maternos.

Conclusiones

Los resultados de este capítulo evidencian que los efectos maternos influyen significativamente en la germinación y emergencia de *Arabidopsis thaliana*, tanto en condiciones controladas como en el campo. La interacción entre ambiente materno, ecotipo y tiempo de postmaduración modula la expresión de la dormición y la capacidad de establecimiento de la progenie. La respuesta de emergencia en el campo también fue variable entre años, esto podría deberse a que el microambiente de la semilla cobra relevancia frente a condiciones ambientales heterogéneas y novedosas. Además, se demostró que la homeostasis de metilación del ADN es clave para la transmisión de información ambiental entre generaciones y que su alteración mediante la 5-Azacitidina puede modificar la percepción y respuesta de las semillas. En conjunto, esta evidencia refuerza el papel de la plasticidad transgeneracional como mecanismo adaptativo temprano en el ciclo de vida.

Capítulo II: el efecto a largo plazo del ambiente materno sobre el tiempo a floración y la supervivencia

*Una palabra no dice nada
Y al mismo tiempo lo esconde todo
Igual que el viento que esconde el agua
Como las flores que esconde el lodo*

Carlos Varela

Resumen

El tiempo a floración y la supervivencia de *Arabidopsis thaliana* están influenciados por señales ambientales, genéticas y transgeneracionales. La floración, como transición clave del ciclo de vida de las plantas con flor, está finamente regulada por factores como la temperatura, especialmente la vernalización, en cuya vía de señalización los genes *FLC* y *FRI* juegan un rol determinante. La regulación del ambiente de generaciones anteriores sobre el tiempo a floración y la supervivencia hasta la etapa reproductiva puede afectar la capacidad adaptativa y reproductiva de las plantas. En este estudio, se analizaron distintos ecotipos que representan estrategias ecológicas contrastantes, y se evaluó cómo el ambiente materno, incluyendo tratamientos de vernalización y Azacitidina (Aza), afecta la fenología reproductiva y la supervivencia de la progenie.

En condiciones controladas, se detectaron efectos transgeneracionales significativos en el tiempo a floración, con interacciones entre generaciones y ecotipos. La vernalización materna atrasó la floración en varios ecotipos, mientras que el tratamiento con Aza alteró la expresión de estos efectos, sugiriendo que la homeostasis de metilación es necesaria para la transmisión de señales ambientales entre generaciones. En campo, los ensayos realizados entre 2022 y 2024 mostraron que la supervivencia fue mayor en otoño que en primavera, y que las semillas provenientes de madres vernalizadas tendieron a emerger más y completar más etapas fenológicas. También se observaron patrones que sugieren una influencia del ambiente materno y del componente genético en la respuesta adaptativa de las plantas.

Estos resultados destacan la importancia de considerar tanto el ambiente actual como el anterior en el estudio de la plasticidad fenotípica, ya que aportan evidencia sobre cómo las plantas pueden ajustar su ciclo de vida frente a condiciones cambiantes y novedosas.

Introducción

La floración como caracter adaptativo

La floración es una transición del desarrollo fundamental en el ciclo de vida de las plantas, ya que marca el paso del crecimiento vegetativo al crecimiento reproductivo (Gray & Brady, 2016). Este proceso implica un cambio en los meristemas, que pasan de producir hojas a generar estructuras florales, y determina en gran medida el éxito reproductivo de la planta. La sincronización del tiempo a floración con condiciones ambientales favorables es crucial para maximizar la producción de semillas y asegurar la perpetuación de la especie (Edwards et al., 2016).

La transición a floración está regulada por señales ambientales, principalmente temperatura y fotoperíodo (Mathieu et al., 2007; Turck et al., 2008). En especies como *Arabidopsis thaliana*, esta regulación se da a través de redes genéticas complejas que integran múltiples vías de señalización (Maple et al., 2024). Una de las más importantes es la vía de la vernalización, que actúa como un sensor del paso del invierno (Michaels et al., 2004). La vernalización permite que la planta "recuerde" que ha experimentado un periodo prolongado de bajas temperaturas y habilita la transición floral cuando la temperatura comienza a aumentar en primavera (Maple et al., 2024).

Los genes *FLOWERING LOCUS C (FLC)* y *FRIGIDA (FRI)* son elementos centrales de esta vía. *FLC*, un factor de transcripción de la familia MADS box que actúa como un represor de la floración, y su expresión disminuye con la exposición al frío (Maple et al., 2024). *FRI*, por su parte, promueve la expresión de *FLC* (Maple et al., 2024; Michaels et al., 2004). La interacción entre estos dos genes, presentes en diferentes ecotipos, determina el requerimiento de vernalización. De esta forma, algunos ecotipos requieren del pasaje por el invierno (vernalización) para florecer, mientras que otros pueden florecer sin esa señal (Fournier-Level et al., 2022; Michaels et al., 2004).

El ciclo anual de invierno de *Arabidopsis thaliana* comienza con la germinación a comienzos del otoño cuando la temperatura baja y la humedad del suelo aumenta (G. A. Auge et al., 2015; Leverett et al., 2016). Los ecotipos pasan el invierno como rosetas hasta que aumenta la temperatura y el fotoperíodo con la llegada de la primavera, y se produce la floración. En la misma estación se producen las semillas que son dispersadas al comienzo del verano (Figura 24, panel izquierdo). Éstas permanecen dormidas hasta la llegada del otoño (Postma & Ågren, 2022). Es importante destacar que la floración de los ecotipos que presentan este ciclo sólo ocurre si la planta atravesó un período de vernalización (o frío prolongado) que indica que el invierno terminó. Pero si las condiciones ambientales varían, por ejemplo, el otoño es muy seco, hay una alteración en el ciclo de vida y pasa a ser un ciclo anual de verano donde, debido al retraso en la germinación, las semillas permanecen dormidas hasta el comienzo de la primavera donde germinan y florecen en la misma estación (Figura 24, panel derecho). Para el final de la primavera la planta libera las semillas y éstas tienen dos opciones: germinar inmediatamente durante el verano y atravesar el estadio vegetativo y reproductivo en la misma

estación, o mantenerse dormidas a lo largo del verano, otoño, e invierno para germinar nuevamente en la primavera (Footitt et al., 2013; Taylor et al., 2017).

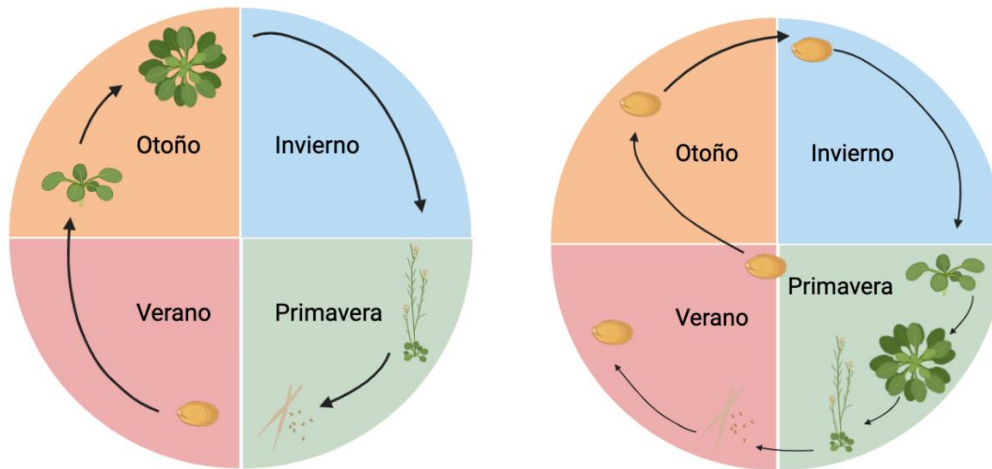


Figura 24. Esquemas de ciclos de vida anuales de la planta *Arabidopsis thaliana*. A la izquierda se muestra un ciclo de vida característico de ecotipos anuales de invierno. A la derecha se muestra un ciclo de vida característico de ecotipos anuales de verano.

Desde el punto de vista ecológico, los ecotipos de floración temprana (los anuales de primavera y verano) germinan al inicio de la primavera y florecen con rapidez, evitando así el invierno. Asimismo, se hallan en entornos perturbados con estaciones y periodos de crecimiento breves (Leventhal et al., 2025; Taylor et al., 2017). Por otro lado, los ecotipos de floración tardía (anuales de otoño/invierno) germinan en otoño, sobreviven como rosetas durante el invierno y florecen en primavera, aprovechando la estación de crecimiento. Se encuentran en ambientes poco disturbados con una estación de crecimiento larga (D'Aguillo & Donohue, 2023). Para que estas estrategias coexistan en la naturaleza, debe mantenerse un polimorfismo estable, donde diferentes morfos tienen ventajas relativas en distintos contextos ambientales. Esto puede lograrse mediante *bet-hedging* (estrategia en la que una misma planta produce semillas con distintos tiempos de germinación) o plasticidad fenotípica (G. A. Auge, Leverett, et al., 2017; Colicchio & Herman, 2020; Leventhal et al., 2025).

La floración también está afectada por los efectos maternos: el ambiente de la planta madre puede modificar la expresión de genes reguladores del tiempo a floración de la progenie (Chen et al., 2014). Estos efectos transgeneracionales pueden actuar a través de cambios epigenéticos que afectan la represión o activación de genes clave, como *FLC* o *FWA* (Bonduriansky, 2021; Colicchio & Herman, 2020; Lukić et al., 2023; Suter & Widmer, 2013a). En *Arabidopsis thaliana* la reducción de la metilación en contexto CG como consecuencia de la inhibición de MET1, acelera la floración. Comprender cómo estas señales ambientales heredadas influyen en la floración de la descendencia permite conocer mejor las estrategias adaptativas de las plantas frente a condiciones cambiantes.

Sobrevivir a las diferentes etapas fenológicas

La supervivencia a través de las etapas fenológicas es fundamental para alcanzar la reproducción y generar descendencia (Donohue et al., 2010; Leventhal et al., 2025). En las

plantas la supervivencia depende de los factores ambientales que reciben los individuos durante su ciclo de vida, de la información proveniente de la generación anterior y de la adaptación de la especie a determinada combinación de factores ambientales (Groot et al., 2017). En especies anuales como *Arabidopsis thaliana*, la supervivencia durante las etapas iniciales del ciclo de vida representa un cuello de botella crítico para la expresión del *fitness* (Zacchello et al., 2020). La capacidad de emerger, establecerse y alcanzar la reproducción está además fuertemente condicionada por la historia adaptativa de cada ecotipo (Gray & Brady, 2016; Zinn et al., 2010). La amplia distribución geográfica de *Arabidopsis thaliana* dio lugar a una gran diversidad de ecotipos, cada uno adaptado a condiciones ambientales particulares (Huang et al., 2014; Wolfe & Tonsor, 2014). Esta variabilidad se manifiesta en estrategias ecológicas diferenciadas, que modulan la supervivencia en función del ambiente de origen. Así, se encuentran ecotipos con ciclos anuales de invierno tardíos y estrictos en climas fríos del norte, que emplean estrategias para enfrentar las bajas temperaturas y el estrés hídrico; también están los ecotipos con ciclos de verano (ruderales), vinculados a la húmeda Europa central y hábitats alterados; los ciclos rápidos del sur y estrategias de bet-hedging para evadir el estrés, que son propios de regiones cálidas y bajas del Mediterráneo y África, donde las plantas logran escapar de las estaciones secas; finalmente, los ciclos facultativos de primavera e invierno, típicos en montañas del sur donde las poblaciones están adaptadas a estaciones con largos periodos secos (Leventhal et al., 2025). Así, dependiendo del origen, los ecotipos pueden desplegar estrategias adquisitivas, caracterizadas por un crecimiento rápido y una alta sensibilidad a condiciones estresantes, o estrategias conservativas, que favorecen la supervivencia bajo estrés mediante una mayor inversión en crecimiento y reproducción. La supervivencia no solo depende de la genética del ecotipo, sino también de la influencia del ambiente materno y de la plasticidad fenotípica transgeneracional (G. A. Auge, Leverett, et al., 2017; Groot et al., 2017; Valencia-Díaz & Montaña, 2005; Whittle et al., 2009). Estos mecanismos permiten ajustar la respuesta de la progenie a condiciones ambientales novedosas, aumentando su probabilidad de establecimiento.

Se han realizado grandes avances en la comprensión genética y epigenética de la floración, sin embargo, aún queda mucho por investigar sobre cómo los efectos maternos influyen en la fenología y supervivencia de *Arabidopsis thaliana* en condiciones naturales, donde el ambiente es variable a diferencia de las condiciones controladas del laboratorio. Además, se desconoce si estos efectos transgeneracionales tienen consecuencias directas sobre el éxito reproductivo de la progenie y, por lo tanto, sobre el *fitness* de las poblaciones en distintos contextos ecológicos. Este capítulo busca responder la siguiente pregunta: ¿Cómo influyen los efectos maternos en la floración y la supervivencia de diferentes ecotipos de *Arabidopsis thaliana*? La hipótesis planteada es que los efectos maternos sobre la fenología y la supervivencia de *Arabidopsis thaliana* dependen del ambiente de la progenie y que estos efectos se expresan en condiciones de laboratorio y de campo. En particular, la predicción es que la progenie de madres expuestas a condiciones ambientales contrastantes mostrará diferencias significativas en tiempo a floración, supervivencia y producción de biomasa.

Materiales y métodos

Floración

El tiempo a floración se determinó de dos formas diferentes al momento de la aparición del botón floral: contando el número de hojas que se desarrollaron en el estado vegetativo, y contando el número de días desde germinación hasta floración. Debido a que algunos ecotipos florecen tardíamente y el número de hojas se vuelve impreciso, en esta tesis se describen los resultados de tiempo a floración en número de días.

Se registró el tiempo a floración de la primera generación de plantas que dieron origen a las semillas que fueron al campo para corroborar la efectividad del tratamiento materno de temperatura y Aza (según el caso). Los resultados para los tres años se encuentran en la Información suplementaria (Figuras S1, S2 y S3; Tablas 19A, 19B, 20A y 20B).

Supervivencia

Para calcular la supervivencia por etapa fenológica primero se calculó la cantidad de plantas emergidas por Ecotipo y Tratamiento Materno como proporción utilizando la cantidad total de plantas sembradas. Luego se calculó la cantidad de plantas florecidas sobre la cantidad de plantas emergidas. Por último, se calculó la cantidad de plantas que alcanzaron la fructificación (y posterior senescencia) sobre el total de plantas florecidas.

Análisis estadístico

Floración

Para analizar las diferencias en floración para cada uno de los diferentes ecotipos frente a los tratamientos maternos, se ajustaron los datos a modelos lineales generalizados y test de máxima verosimilitud utilizando la función ‘*glm*’ (R Core Team, 2024) para estudiar la interacción entre los ecotipos y el tratamiento materno de temperatura (y Aza, según el caso). En primer lugar, se planteó un modelo general en el que se analizó el efecto de las variables explicatorias Tratamiento Materno, Ecotipo y su interacción (Trat. Mat. x Ecotipo) sobre la variable respuesta número de días a floración. En ambos casos las variables explicatorias son cualitativas y de efectos fijos y están cruzadas entre sí. Para el análisis se utilizó una familia de distribución Poisson con una función de enlace log. La función ‘*Anova*’, de los paquetes ‘*car*’ y ‘*carData*’ (Fox & Weisberg, 2019), se utilizó para evaluar la interacción entre las variables explicatorias.

Supervivencia

La supervivencia no fue analizada estadísticamente debido a la alta mortalidad y el bajo número de réplicas asociado.

Resultados: tiempo a floración y supervivencia

El tiempo a floración de la progenie responde al ambiente materno

Cuando el ambiente de la generación anterior afecta la respuesta de floración de la progenie, este efecto puede alterar la expresión de la plasticidad adaptativa de los individuos. Entonces se estudiaron los efectos maternos de la vernalización sobre el tiempo a floración de la progenie en laboratorio y campo.

Efectos maternos en condiciones controladas influyen en el tiempo a floración de la progenie

Se creció una segunda generación de plantas en condiciones controladas para evaluar los efectos transgeneracionales en el tiempo a floración y comparar con la respuesta en el campo. La segunda generación se creció en condiciones control o de vernalización, dando plantas con todas las combinaciones posibles de ambientes de la primera y segunda generación (ver Materiales y métodos). El análisis estadístico reveló una triple interacción significativa (G1 x G2 x Ecotipo; Tabla 12A, Información suplementaria) indicando que al menos uno de los ecotipos mostró efectos transgeneracionales en la respuesta de floración, en condiciones controladas. Al analizar en profundidad esta interacción, disectando el análisis por ecotipo, se encontró que Ler-0, Ws-0, Cen-0 y Öm2-1 mostraron interacción significativa entre G1 x G2 (Información suplementaria, Tabla 12B), indicando que el tiempo a floración no solo está determinado por el ambiente de la planta, sino también por el ambiente de la generación anterior. En la Figura 25 se puede observar que las plantas no vernalizadas en la segunda generación (G2) tardaron más tiempo en florecer respecto a aquellas que recibieron el tratamiento de vernalización (con excepción de Ra-0 que muestra el patrón contrario). Esto sugiere que el ambiente más inmediato es predominante en la regulación de la respuesta de floración.

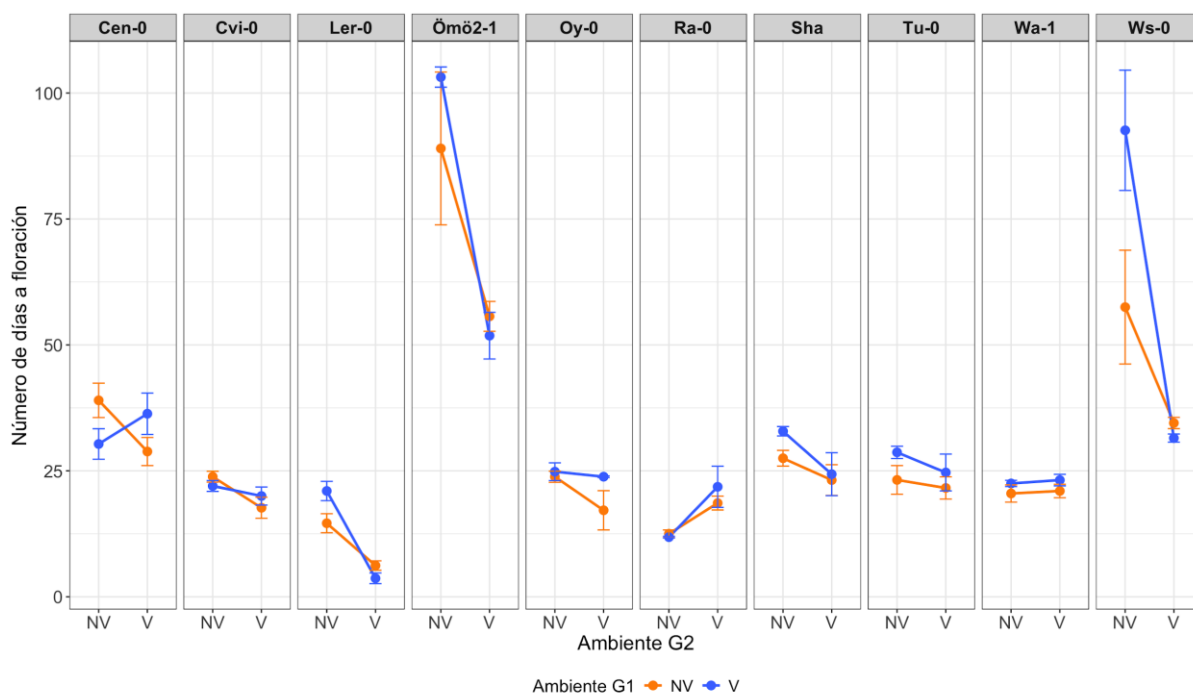


Figura 25. Tiempo a floración en días para la segunda generación de plantas y cada uno de los ecotipos en estudio. Las normas de reacción representan el promedio de tiempo a floración (días) por ecotipo, los colores muestran el tratamiento de la G1 (naranja, NV; azul, V). Los paneles muestran la respuesta de cada uno de los ecotipos. El eje x muestra el tratamiento de la G2 (izquierda, NV; derecha, V). Las barras de error indican el error estándar (EE).

Tiempo a floración en condiciones naturales – Primer ensayo de campo

En la siembra de otoño de 2022, se observó que el tiempo a floración respondió al ecotipo, pero no al tratamiento materno (Ecotipo: $\chi^2 = 35,975$, p-valor = $1,77 \times 10^{-5}$). El análisis de datos tampoco mostró una interacción significativa entre el Ecotipo y el Tratamiento Materno (E x TM, $\chi^2 = 1,918$, p-valor = 0,96). En general, las plantas provenientes de madres V tardaron más en florecer que aquellas provenientes de madres NV (Sha, Wa-1 y Ws-0, Figura 26) y algunas tardaron el mismo tiempo sin diferencias entre tratamientos maternos (Cvi-0, Ler-0, Oy-0, Ra-0 y Tu-0, Figura 26). Öm2-1 no contó con individuos que alcanzaran la floración para ningún tratamiento y una sola planta de Cen-0 de madres V alcanzó la floración para esta fecha de siembra (Figura 26, panel superior; pero ver también sección Supervivencia, Capítulo II).

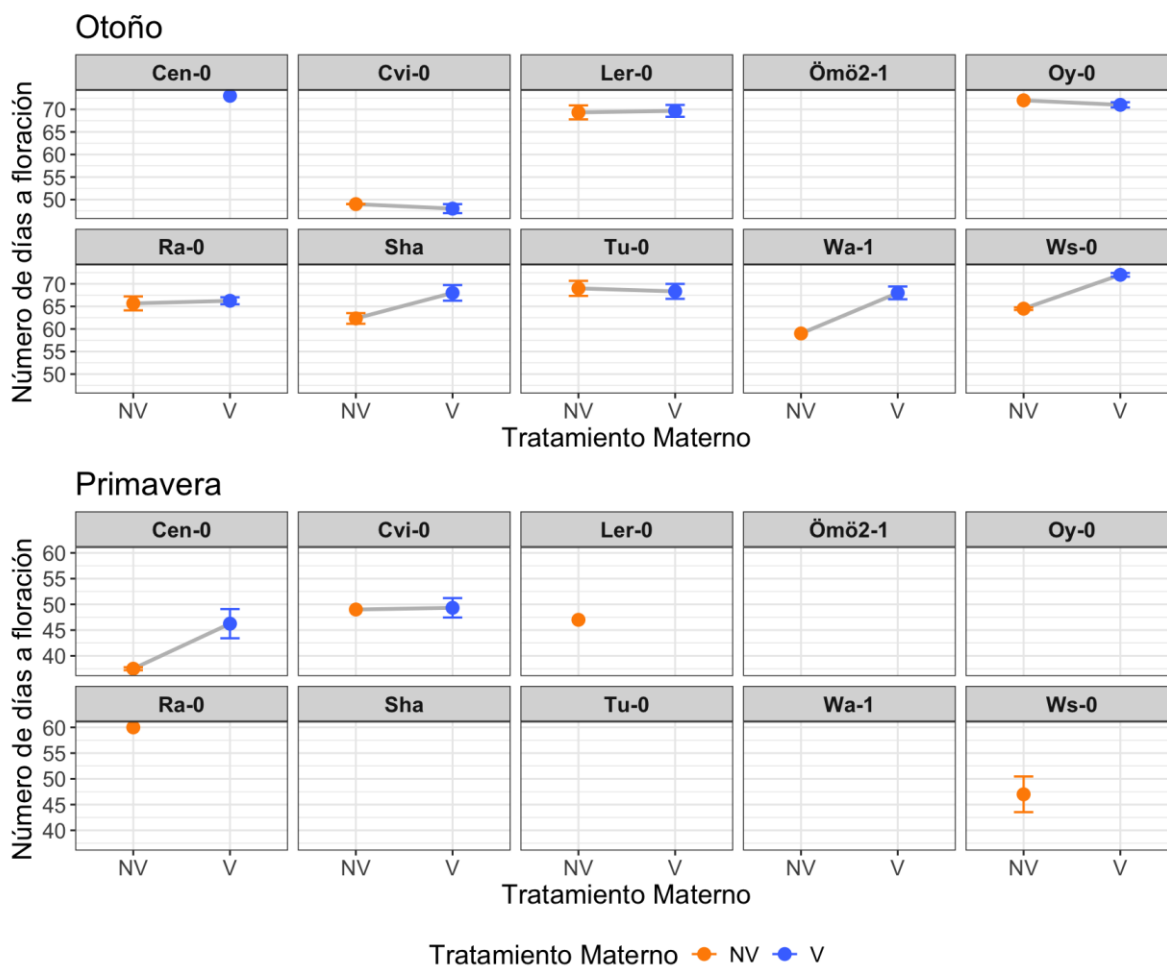


Figura 26. Promedio del número de días a floración para cada ecotipo en estudio provenientes de madres no vernalizadas (NV, naranja) y vernalizadas (V) para las dos siembras de 2022: otoño (panel superior) y primavera (panel inferior). Las barras de error se muestran como \pm error estándar.

Para la siembra realizada en primavera, debido a la baja emergencia observada (ver Primer año, Capítulo I), la recolección de datos de tiempo a floración no fue exitosa (Figura 26, panel inferior). Sin embargo, Cen-0 y Cvi-0 contaron con ejemplares que alcanzaron la floración, provenientes de madres V y NV: Cen-0 tardó más en florecer la progenie de madres V (10 días más) mientras que para Cvi-0 no hubo diferencias, para ambos tratamientos la floración fue a los 50 días. Por otra parte, para Ler-0 y Ws-0 alcanzaron la floración cuando el tratamiento materno fue NV (Figura 26).

Tiempo a floración en condiciones naturales – Segundo ensayo, otro ambiente

En el año 2023, la fecha de siembra no modificó el tiempo a floración en el campo (Cen-0, Cvi-0, Ömö2-1, Ra-0 y Sha, Figura 27) o la retrasó cuando la siembra se realizó más tarde en el otoño (Ler-0, Tu-0, Wa-1 y Ws-0; Figura 27, panel inferior). En ambas fechas de siembra, el tiempo a floración dependió del ambiente materno y el ecotipo (interacción significativa Tratamiento Materno x Ecotipo; Información suplementaria, Tablas 13A y 14A). En la primera siembra (Figura 27, panel superior), el ecotipo Ws-0 respondió significativamente al

tratamiento materno (Tabla 13B, Información suplementaria), con la progenie de plantas madre V floreciendo más tarde que las de madres NV. En la segunda fecha de siembra (Figura 27, panel inferior), el ecotipo Cvi-0 mostró diferencias significativas (Tabla 14B, Información suplementaria), la progenie de madres NV tardó más en florecer que la de madres V.

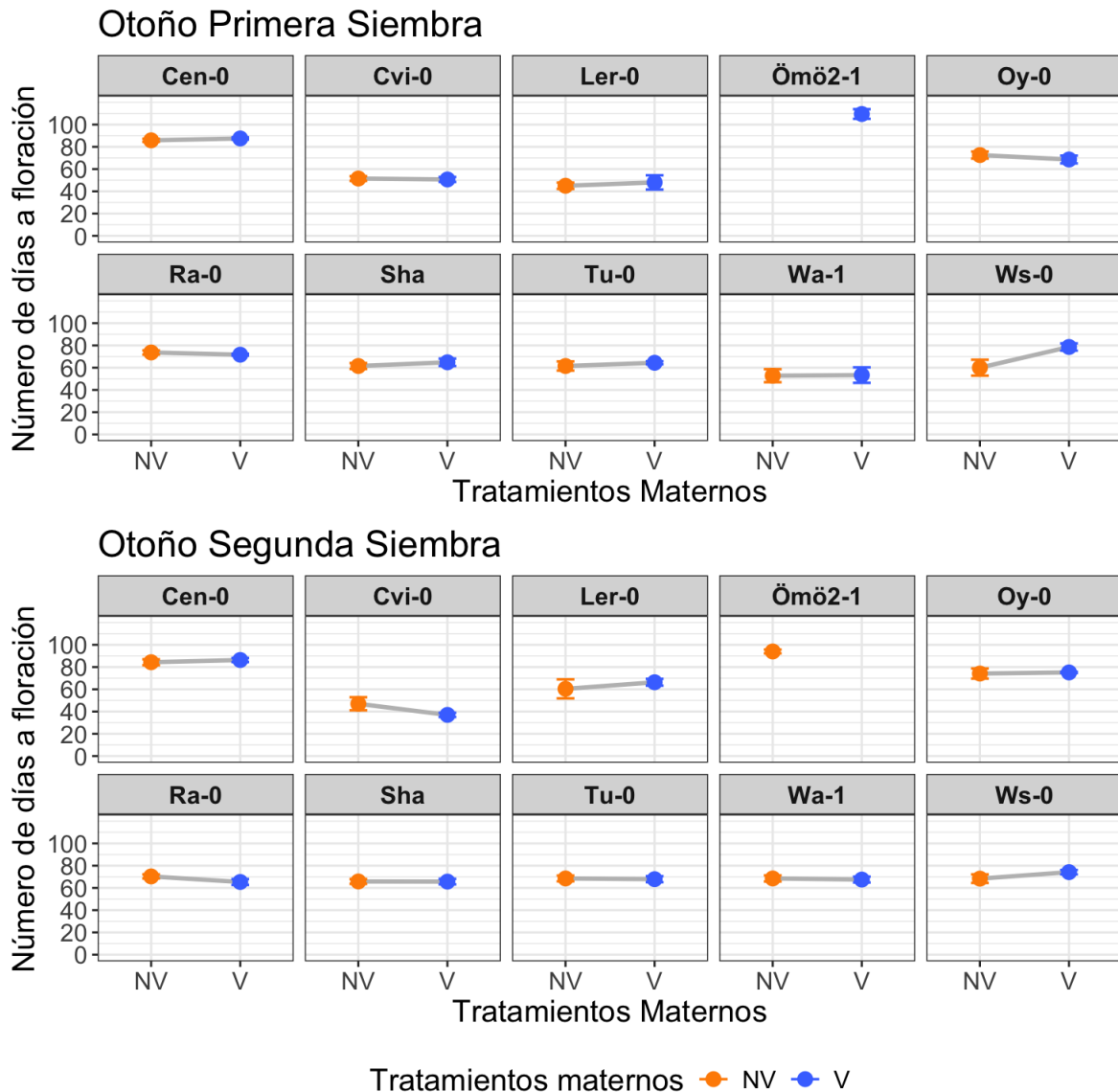


Figura 27. Promedio del número de días a floración para plantas de la segunda generación de todos los ecotipos en estudio provenientes de madres no vernalizadas (NV, naranja) y vernalizadas (V) para las dos siembras de otoño de 2023: primera (panel superior) y segunda fecha de siembra (panel inferior). Las barras de error se muestran como \pm error estándar.

En ambas fechas de siembra de primavera del año 2023, la emergencia de plántulas y, por lo tanto, la supervivencia a floración, fueron prácticamente nulas (ver sección Supervivencia de este capítulo). Para la primera fecha de siembra, solo uno de los ecotipos en estudio logró alcanzar la floración, Ler-0, proveniente de madres V (datos no mostrados). En este caso, la

floración a campo fue fuertemente dependiente de la germinación y emergencia, por lo que el éxito de las semillas en el campo determina la capacidad reproductiva de las plantas.

Efectos maternos combinados y tiempo a floración de la progenie – Tercer año

Para la primera siembra de otoño no se encontraron diferencias significativas para la interacción entre los ambientes maternos (tanto temperatura como Aza) y los ecotipos (Tabla 15, Información suplementaria; Figura 28, panel superior). Sin embargo, se encontró una interacción significativa para el tratamiento de Aza y los ecotipos, indicando que el tratamiento tuvo un efecto en al menos uno de los ecotipos (Ecotipo x Tratamiento Aza; $\chi^2 = 6.645$; g.l. = 2; p-valor = 0.036). Para Cen-0 se encontró un efecto significativo del ambiente materno de temperatura (Tratamiento Temperatura, $\chi^2 = 9.449$; g.l. = 1; p-valor = 0.002), las plantas provenientes de madres NV tardaron más tiempo en florecer. Ler-0 respondió al tratamiento materno de Aza (Tratamiento Aza, $\chi^2 = 5.466$; g.l. = 1; p-valor = 0.019), la progenie tardó más tiempo en florecer cuando las madres fueron tratadas con Aza. Finalmente, para Tu-0 no se encontró un efecto significativo de los tratamientos (Figura 28, panel superior).

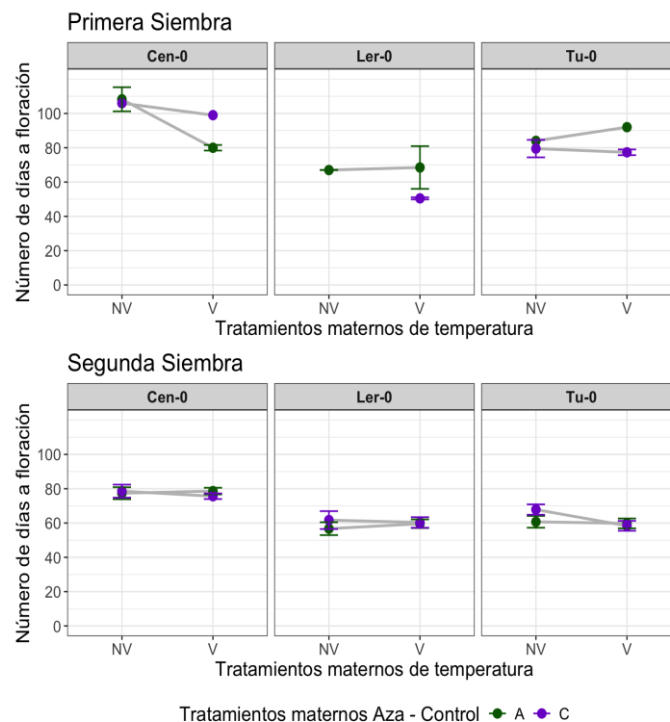


Figura 28. Número de días a floración promedio para los tres ecotipos en estudio provenientes de madres no vernalizadas (NV) y vernalizadas (V) para las dos siembras de otoño de 2024: la primera (panel superior) y la segunda (panel inferior). Los colores representan los tratamientos maternos de Aza – Control (verde, A; violeta, C). Las barras de error se muestran como \pm el error estándar.

Para la segunda siembra (Figura 28, panel inferior) no se encontraron diferencias en el tiempo a floración de la progenie en días para ninguno de los tres ecotipos en estudio (Tabla 16, Información suplementaria). El ecotipo Cen-0 floreció a los 80 días de la emergencia y Ler-0 y Tu-0 a los 60 días aproximadamente. En el caso de Cen-0, las plantas adelantaron la floración

20 días, en comparación con la primera siembra, mientras que las plantas de Tu-0 adelantaron por 10 a 20 días también.

Supervivencia

Primer año

La supervivencia a campo para el año 2022 fue mayor en otoño (Figura 29, panel superior) que en primavera (Figura 29, panel inferior), es decir que: la mayoría de los ecotipos alcanzó la fructificación y posterior senescencia y que en primavera la mortalidad fue mayor. Además, otra tendencia clara en los resultados fue que las semillas que provienen de madres V emergen más y desarrollan, en algunos casos, otra fase fenológica, para ambas fechas de siembra (Figura 29, puntos azules) aunque la siembra de otoño fue más exitosa en términos reproductivos, esto significa que pudieron completar el ciclo reproductivo hasta senescencia. También se observó variación genética en la respuesta, Oy-0 y Wa-1 NV y Sha NV mostraron un patrón distinto a la V corta del resto de los ecotipos en otoño (Figura 29, panel superior). Es importante destacar que no se encontraron diferencias significativas para ningún análisis, ni el modelo general ni los submodelos, probablemente debido al bajo número de réplicas.

Durante el periodo de crecimiento (de mayo a agosto de 2022) el ambiente fue predominantemente seco sin lluvias abundantes y la temperatura fue aumentando gradualmente (Figura 9, Climatograma 2022). Además, de las pocas plántulas que sí emergieron, muy pocas sobrevivieron a floración (Figura 29, panel inferior). De los 10 ecotipos en estudio, cinco alcanzaron la floración (Cen-0, Cvi-0 Ra-0, Ler-0 y Ws-0); de estos, tres correspondieron a la progenie de madres NV (Ra-0, Ler-0 y Ws-0). Si bien no se detectaron efectos del ambiente materno ($\chi^2 = 1,525$; g.l. = 1; p-valor = 0,217) ni una interacción significativa con el ecotipo ($\chi^2 = 0,890$; g.l. = 1; p-valor = 0,345) en la respuesta de tiempo a floración para la fecha de siembra de primavera, los resultados podrían sugerir alguna influencia del ambiente de la generación anterior sobre la supervivencia a reproducción de las plantas modulada por el componente genético.

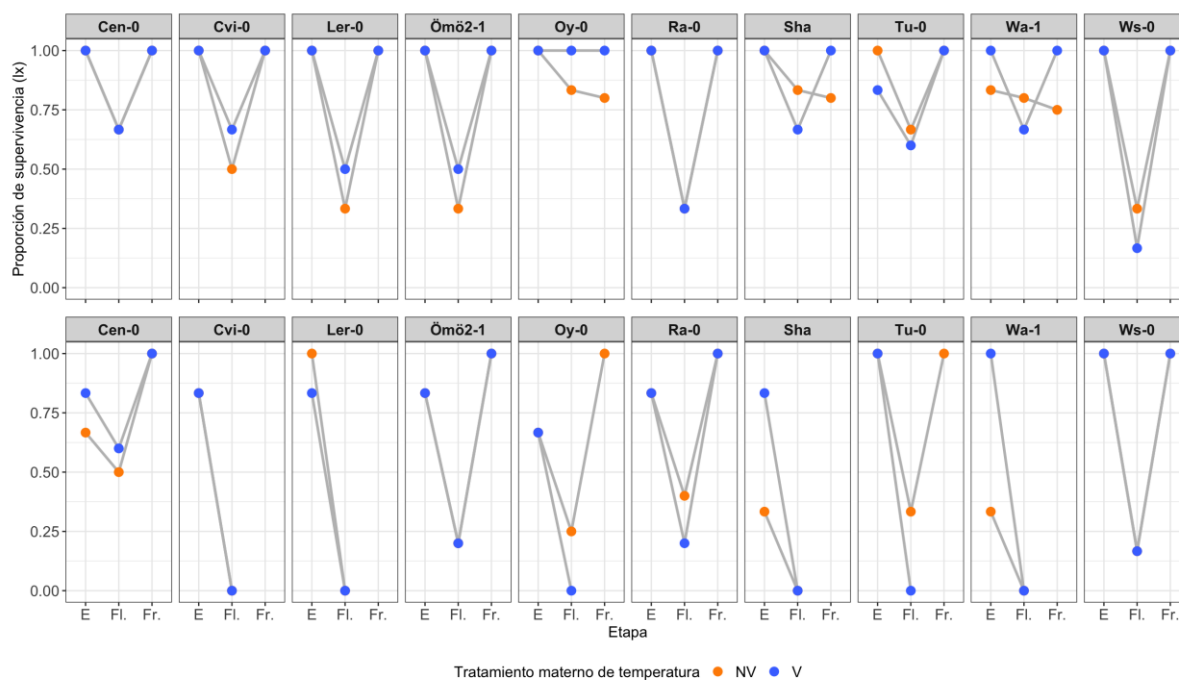


Figura 29. Supervivencia por fases fenológicas para el ensayo de otoño (panel superior) y primavera (panel inferior) de 2022. El eje y es el promedio de la proporción de supervivencia, el eje x muestra las etapas del ciclo de vida (E = emergencia, Fl = floración, Fr = fructificación). Los paneles indican los ecotipos. En colores se muestran los tratamientos maternos de temperatura (NV, naranja; V, azul).

Segundo año

Para las siembras del año 2023 se observaron los mismos patrones que para el año 2022.

Hubo una mayor supervivencia en otoño en todas las etapas fenológicas (Figura 30, paneles a y b) y la mortalidad en primavera fue mayor (Figura 30, c y d). Las dos siembras de otoño mostraron una alta supervivencia a floración de todos los ecotipos sin importar el ambiente materno. La única excepción fue Öm2-1, para el cual en la primera siembra solo llegaron a florecer las plantas descendientes de plantas madre V, mientras que, en la segunda siembra, las de plantas madre NV (Figura 30).

Además, las semillas provenientes de madres V emergieron más y sobrevivieron durante más fases fenológicas comparadas con las provenientes de madres NV, para todas las siembras. Se observó variación genética en la respuesta de supervivencia, los ecotipos Cen-0, Cvi-0, Oy-0, Tu-0 y Ws-0, no mostraron el patrón característico en V para la segunda siembra de otoño indicando que la supervivencia a floración fue máxima (Figura 30). Para ecotipos como Ler-0, Tu-0, Ra-0 y Sha, se encontró que la supervivencia a floración fue máxima en otoño, aunque posteriormente no todos alcanzaron la fructificación (Figura 30, paneles a y b).

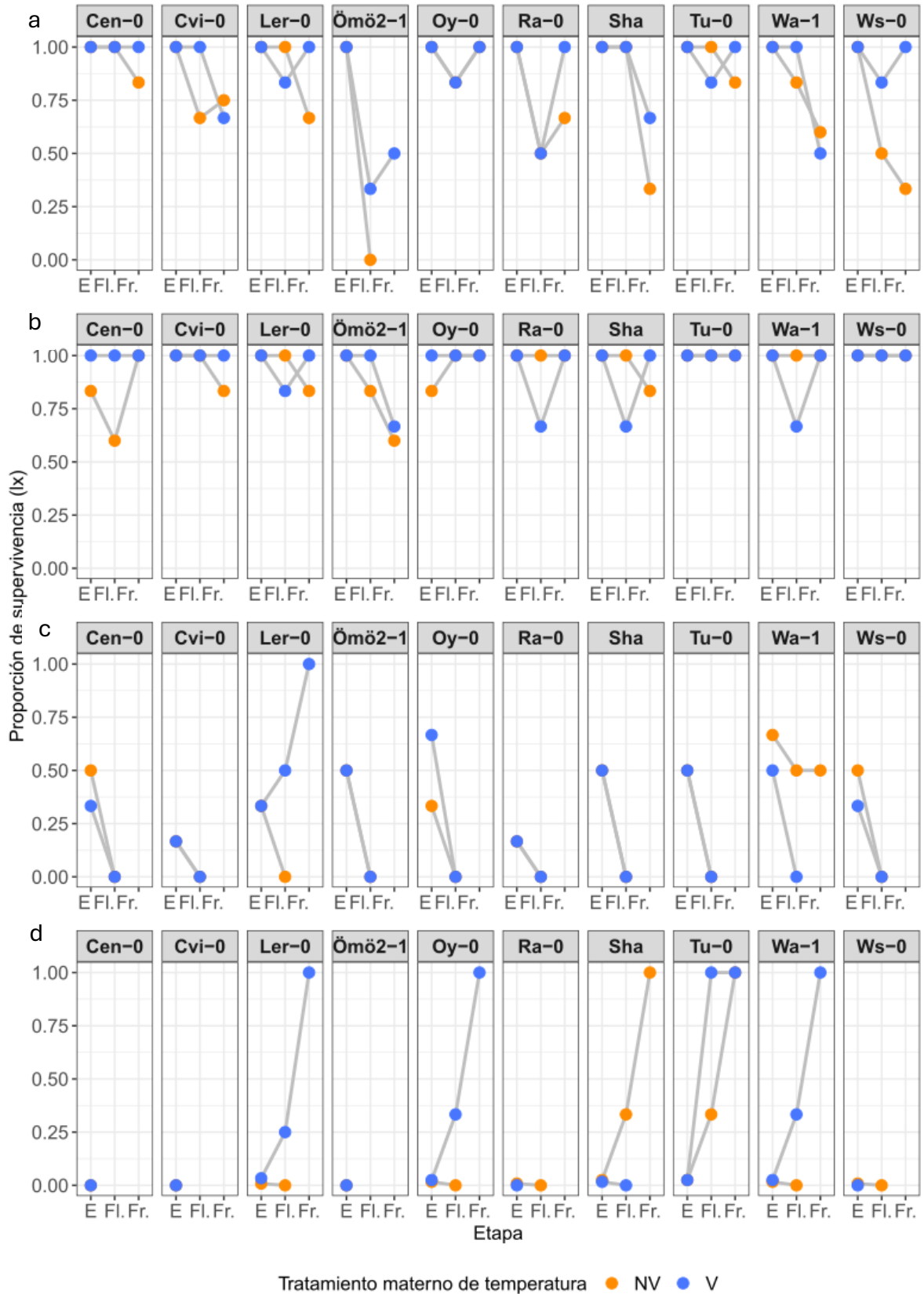


Figura 30. Supervivencia por etapas de vida para todas las fechas del ensayo de campo de 2023. El eje y es el promedio de la proporción de supervivencia, el eje x muestra las etapas del ciclo de vida. Los paneles indican los ecotipos. En colores se muestran los tratamientos maternos de temperatura (NV, naranja; V, azul). Las letras

indican la fecha de siembra: a) primera siembra otoño, b) segunda siembra otoño, c) primera siembra primavera y d) segunda siembra primavera.

Tercer año

Para el año 2024 también se encontraron patrones de supervivencia similares a los años anteriores (Figura 31). Durante la primera siembra de este año, el período de supervivencia entre la emergencia y la floración fue bajo en comparación con la segunda siembra del mismo año (el patrón en V es más marcado en la primera siembra). La mayoría de las plantas no sobrevivieron a floración (Figura 31, panel superior), a diferencia de lo ocurrido durante la segunda siembra donde la supervivencia a floración y posterior fructificación fue mayor (Figura 31, panel inferior). Además, se encontraron algunas diferencias entre ecotipos provenientes de madres Control y Aza y V y NV (Figura 29): para Tu-0 V-Aza hubo mayor mortalidad en la etapa de floración, en la primera siembra. Además, en la segunda siembra hubo una mayor supervivencia entre floración y fructificación comparada con la primera siembra.

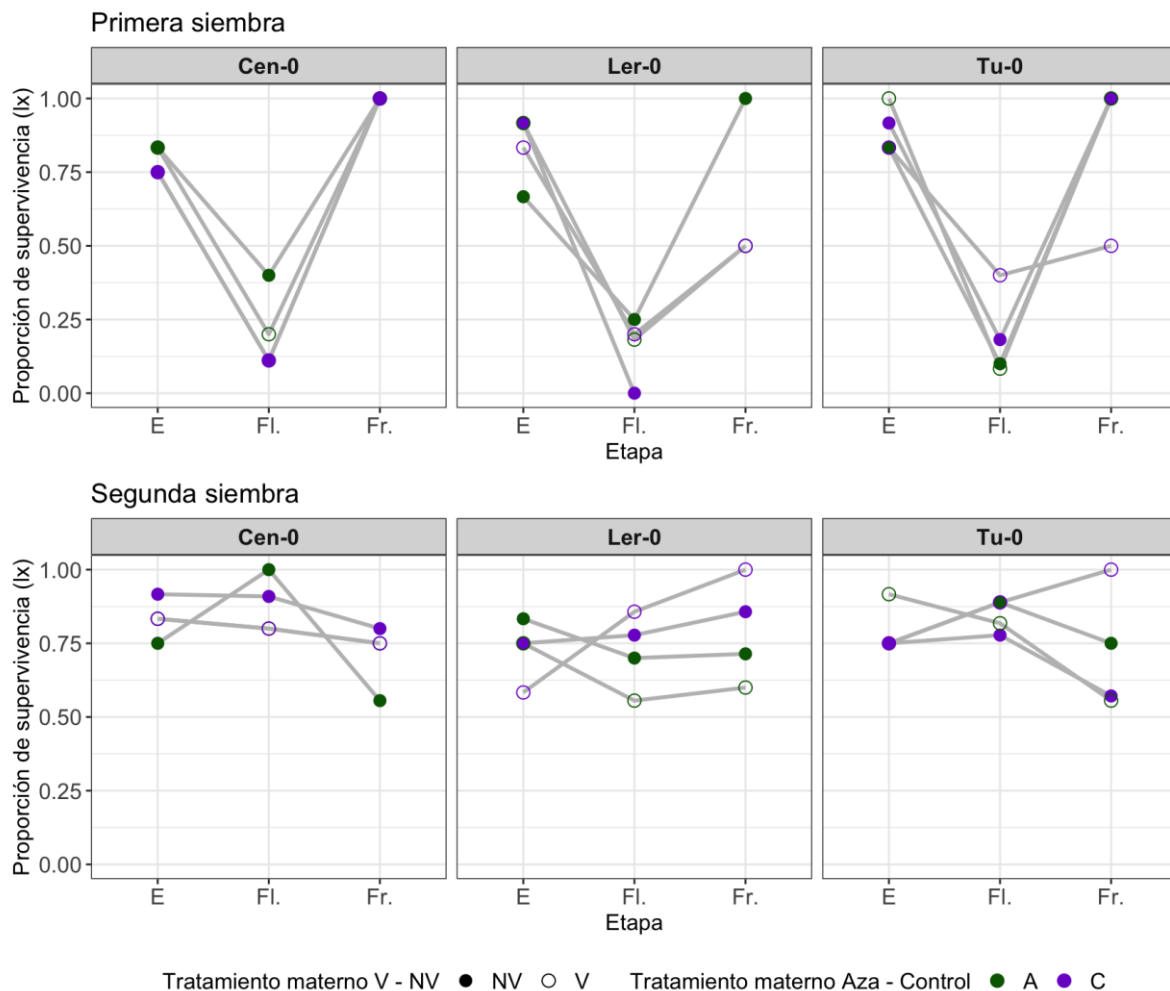


Figura 31. Supervivencia por etapas de vida para la primera y segunda fecha de siembra del ensayo de campo de 2024. El eje y es el promedio de la proporción de supervivencia, el eje x muestra las etapas del ciclo de vida. Los paneles superior e inferior indican las fechas de siembra (primera siembra, panel superior; segunda siembra, panel inferior). De izquierda a derecha cada panel corresponde a un ecotipo (Cen-0, izquierda; Ler-0, medio; Tu-0,

derecha). En colores se muestran los tratamientos químicos recibidos por las plantas madre (verde-círculo lleno, NV-Aza; violeta-círculo lleno, NV-Control; verde-círculo vacío, V-Aza; violeta-círculo vacío, V-Control).

Discusión

Los resultados obtenidos en este capítulo evidencian que el tiempo a floración y la supervivencia de *Arabidopsis thaliana* están modulados por una interacción entre el ambiente materno, el ecotipo y las condiciones ambientales de la progenie. En condiciones controladas, se detectaron efectos transgeneracionales significativos, donde el ambiente de la generación anterior influye en la expresión fenotípica de la progenie. Esta influencia, sin embargo, se ve modulada por el ambiente más inmediato, que tiene predominancia en la regulación del tiempo a floración en laboratorio y campo. Por el contrario, en condiciones naturales el ambiente materno toma un rol predictivo de la supervivencia de la progenie, sugiriendo un fuerte efecto en este componente del *fitness*.

Efectos maternos sobre la estrategia reproductiva

El tiempo a floración, como carácter clave de la historia de vida de las plantas, está vinculado al esfuerzo reproductivo y puede estar sujeto a selección por fecundidad; este tipo de selección ocurre cuando los individuos adaptados producen una mayor cantidad de descendencia (Kuijper & Johnstone, 2021). En condiciones controladas, se observaron efectos maternos sobre este carácter, pero en el campo estos efectos tuvieron un efecto más débil, observándose una sincronización del tiempo a floración entre los ecotipos (Figuras 25, 26, 27 y 28). Ciertos tipos de estrés materno pueden tener un efecto que persiste por varias generaciones alterando directamente el tiempo a floración de la descendencia. Por ejemplo, la exposición de las plantas madre a estrés por salinidad o calor durante el crecimiento vegetativo temprano alteró el tiempo a floración por tres generaciones (Suter & Widmer, 2013b). Además, el calor moderado acelera la floración de la progenie (Groot et al., 2017), lo que puede ser ventajoso en ambientes donde el inicio de las altas temperaturas (que limitan la temporada de crecimiento) está correlacionado entre generaciones. En esta línea, la temperatura materna no estresante durante todo el ciclo de vida influyó en el tiempo a floración de la segunda generación en condiciones controladas (Figura 25). Sin embargo, si la progenie fue cultivada en un ambiente de floración fuertemente inductivo o restrictivo por la combinación de factores ambientales sub- o supra-óptimos (condiciones naturales), este ambiente puede acelerar la floración y enmascarar los efectos maternos (Authier et al., 2023).

En condiciones controladas, los ecotipos Ler-0, Ws-0, Cen-0 y Öm2-1 mostraron variación en el tiempo a floración de la segunda generación debida a la interacción entre ambientes (Figura 25), mientras que otros como Ra-0 no mostraron sensibilidad, reforzando la idea de que la historia evolutiva y el origen geográfico de cada ecotipo condicionan su estrategia reproductiva (Bastias et al., 2024; Vasseur et al., 2018). Ler-0, Ws-0 y Öm2-1 mostraron un efecto antagonista entre el ambiente de la primera generación y el ambiente de la segunda: cuando la combinación de ambientes fue V-V no hubo diferencias en el número de días a floración de la segunda generación comparadas con las plantas NV-V. En cambio, cuando las combinaciones de ambientes fueron V-NV y NV-NV, se observó un desacoplamiento de la respuesta siendo los ecotipos V-NV los que tardaron más días en florecer, contrario a lo esperado donde la vernalización acelera la floración. En cambio, en condiciones naturales se observó una sincronización del tiempo a floración de la segunda generación para todos los

ecotipos (Figura 27), aunque se detectaron efectos significativos de la vernalización materna para algunos, el tamaño del efecto fue pequeño (aproximadamente 10 días en promedio). Estos resultados indican que el tiempo a floración en el campo tiene una fuerte presión de selección que impide que se expresen los efectos maternos en condiciones heterogéneas. Esto se condice con lo propuesto en Auge, Leverett et al. (2017), donde se hipotetiza que el ambiente materno pierde predictibilidad cuando el ambiente de la progenie es selectivo.

La influencia de los efectos maternos sobre la supervivencia a campo

Los ensayos de campo realizados durante tres años consecutivos mostraron una tendencia clara: la supervivencia fue consistentemente mayor en otoño que en primavera, tanto en emergencia como en floración y fructificación (Figuras 29, 30 y 31). Este patrón puede explicarse por condiciones climáticas favorables en otoño donde la temperatura del suelo disminuye y la humedad del suelo aumenta. Además, las semillas de madres V mostraron una mayor capacidad de emergencia y desarrollo del ciclo de vida, lo que sugiere que el ambiente materno puede preparar a la progenie para enfrentar condiciones adversas o novedosas. Este resultado es consistente con modelos propuestos previamente que enuncian que la selección por viabilidad favorece la evolución de los efectos maternos ya que el fenotipo materno se correlaciona con el entorno y puede actuar como una señal informativa para la descendencia (Kuijper & Johnstone, 2021).

Para algunos ecotipos se observaron efectos en el tiempo a floración y la supervivencia. Por ejemplo, las plantas de la progenie del ecotipo Ws-0 tardaron más en florecer cuando las madres fueron vernalizadas (Figura 27). Además, estas plantas tuvieron una mayor supervivencia cuando el tratamiento materno fue vernalización, sugiriendo que el ambiente materno favoreció la viabilidad y la fenología (Figuras 29 y 30). Por otro lado, Ra-0 tuvo el comportamiento contrario, la progenie de madres no vernalizadas tardó más en florecer, pero sobrevivieron menos en primavera. En general, la vernalización de la planta madre resultó ventajosa frente a un ambiente novedoso. De hecho, la vernalización de la planta madre favoreció la supervivencia para las plantas de las siembras de otoño y no las de primavera (Figuras 29 y 30). Estas condiciones podrían considerarse una repetición de las condiciones de la primera generación (las plantas experimentaron el invierno en el campo), indicando que la correlación de ambientes es adaptativa como se ha visto para *Campanulastrum americanum* (Galloway & Etterson, 2007). Al menos en nuestras condiciones de campo encontramos ecotipos con supervivencia máxima en la segunda siembra de otoño de 2023 (Figura 30). Las plantas de Cen-0, Cvi-0, Oy-0, Tu-0 y Ws-0 provenientes de madres V y adaptados a ambientes con una marcada estacionalidad, muestran un nicho posible de desarrollo en un ambiente novedoso como el de Buenos Aires. Por otra parte, para Ler-0, un ecotipo con floración rápida (ciclo anual de verano) se observó supervivencia en primavera, aunque solo para un individuo. Estos resultados indican que la primavera en Buenos Aires muestra condiciones ambientales restrictivas para esta especie como la baja humedad del suelo (sequía) producto de las escasas lluvias durante ese período.

Influencia de la metilación del ADN sobre la floración y la supervivencia de la progenie

La metilación del ADN influye en la plasticidad fenotípica de la progenie en caracteres tempranos como la germinación y el desarrollo de la plántula, lo que puede tener consecuencias en la floración y supervivencia a través del ciclo de vida de las plantas (Morgan & Donohue, 2022b, 2022a). Sin embargo, la influencia de la metilación materna es más fuerte en las etapas tempranas de la vida de la progenie. En los trabajos citados, la demetilación química de la generación madre no influyó en caracteres adultos de la progenie, sugiriendo que la regulación materna de la plasticidad es fuerte al principio de la vida, pero no en etapas posteriores. En esta tesis se observó que el tratamiento con Aza tuvo un efecto en el tiempo a floración de la progenie, dependiente del ecotipo y del ambiente más inmediato en el campo (Figura 28), efecto no reportado en la literatura previa.

La regulación epigenética de la floración se produce a través de las modificaciones de histonas y la metilación del ADN que regulan la plasticidad intra- y transgeneracional de manera estacional (Bonduriansky, 2021; Lämke & Bäurle, 2017). La vernalización, por ejemplo, está asociada a la inhibición de *FLC* (un represor de la floración) por silenciamiento epigenético que en consecuencia acelera la floración (Bastow et al., 2004). Por otra parte, la enzima MET1 tiene como función mantener la metilación CG y está involucrada en la impronta genómica, por lo que podría ser un mecanismo posible de regulación de la plasticidad transgeneracional (Jullien et al., 2006). Estos mecanismos podrían explicar la persistencia de los efectos maternos en condiciones controladas.

Sin embargo, en condiciones naturales no se observaron grandes diferencias en el tiempo a floración debidas al tratamiento químico con Aza (Figura 28). De hecho, no hubo triple interacción entre los tratamientos maternos de temperatura y Aza y el ecotipo. Para este año se observó nuevamente una variación en el tiempo a floración entre la primera y la segunda siembra: Cen-0 y Tu-0 adelantaron la floración 20 días y Ler-0 adelantó 5 días, indicando que el ambiente más inmediato de las plantas es decisivo para establecer el momento de la floración. Estos resultados concuerdan con la bibliografía donde se evidencia que la plasticidad dentro de la generación siempre presenta mayor *fitness* indicando que el ambiente más inmediato es decisivo para establecer el momento de la floración (Kronholm, 2022).

En cuanto a la supervivencia, durante la primera siembra se observó el patrón en V característico de las especies semélparas con una disminución en la supervivencia a fructificación de Ler-0 y Tu-0 NV-C. En cambio, para la segunda siembra aumentó la supervivencia a floración en todos los casos (Figura 31). Estos resultados nuevamente concuerdan con la bibliografía que propone que la plasticidad intrageneracional presenta mayor influencia en caracteres tardíos del ciclo de vida.

Conclusiones

En este capítulo se muestra que el ambiente materno afecta el tiempo a floración y la supervivencia de la progenie, con efectos transgeneracionales detectables en condiciones controladas en el tiempo a floración, pero atenuados en el campo debido a la fuerte presión de selección ambiental. Sin embargo, la vernalización materna favoreció la supervivencia en otoño, mientras que el ambiente más inmediato adquirió mayor relevancia en primavera.

La variabilidad entre ecotipos sugiere que la historia evolutiva modula la sensibilidad a señales maternas. Además, se observó que el tiempo a floración puede estar acoplado a la supervivencia, lo que indica que este carácter podría estar bajo selección por viabilidad. Estos resultados aportan evidencia sobre cómo los efectos maternos pueden ajustar la fenología reproductiva frente a condiciones cambiantes. Finalmente, la coexistencia de estrategias de floración temprana y tardía en la naturaleza requiere de un equilibrio dinámico entre plasticidad, efectos transgeneracionales y variación genética. Este capítulo aporta evidencia empírica sobre cómo estos factores interactúan para modificar la fenología y el éxito reproductivo de *Arabidopsis thaliana*, frente al cambio climático.

Capítulo III: Caracteres relacionados al *fitness*

*Llevo mi sombra alerta sobre la escama del agua abierta
Y en el reposo vertiginoso del espinel
Sueño que alzo la proa y subo a la luna en la canoa
Y allí descanso, hecha un remanso mi propia piel*

Jorge Fandermole

Resumen

Este capítulo explora cómo los efectos maternos y la plasticidad transgeneracional influyen en caracteres fenológicos y reproductivos vinculados a la aptitud en *Arabidopsis thaliana*, una especie con estrategia adquisitiva. Se evaluaron rasgos como área y diámetro foliar, biomasa aérea, peso y área de semillas, en distintas generaciones y bajo condiciones controladas y de campo. Estos indicadores permiten una aproximación integral al *fitness*, considerando tanto el crecimiento vegetativo como la inversión reproductiva bajo distintos ambientes maternos.

Se observaron efectos significativos del ambiente materno sobre el área foliar y el peso y tamaño de semillas en la progenie. Algunos ecotipos respondieron positivamente a la vernalización, mientras que otros lo hicieron bajo NV. En G2 y G3, se detectaron interacciones entre ambientes de distintas generaciones, especialmente en el área foliar y el tamaño de semillas, evidenciando efectos transgeneracionales. Los PCA de campo mostraron asociaciones entre emergencia, desarrollo vegetativo y supervivencia, con ecotipos como Cen-0, Oy-0 y Tu-0 destacándose por sus respuestas. Para el tercer año en campo, no se encontraron interacciones significativas entre tratamientos y ecotipos, aunque se observaron patrones consistentes, como mayor desarrollo vegetativo en Cen-0 bajo tratamiento Control. La baja supervivencia en algunos ensayos limitó la detección de efectos significativos en biomasa aérea.

Se incorporó el tratamiento con Aza para evaluar qué ocurría con la progenie al afectar la homeostasis de metilación del genoma. En condiciones controladas, se encontró una triple interacción significativa para el área foliar (Ecotipo \times Tratamiento de temperatura \times Tratamiento de Aza), con respuestas específicas en ecotipos como Ler-0 y Tu-0. El peso de semillas mostró una interacción significativa en Ler-0, mientras que el área de semillas no fue afectada, sugiriendo cambios en cantidad, pero no en tamaño de las semillas.

En condiciones de campo, se observó que el ambiente materno influyó en variables como emergencia, supervivencia, número de hojas y días a floración. El análisis de componentes principales (PCA) reveló una clara separación entre progenie proveniente de plantas madre vernalizadas (V) y no vernalizadas (NV), con asociaciones entre emergencia, temperatura acumulada y supervivencia (Dim1), y desarrollo vegetativo hasta la floración (Dim2).

Los resultados muestran que la aptitud en *Arabidopsis thaliana* está modulada por efectos maternos, ambientales y epigenéticos, con respuestas ecotipo-específicas. La plasticidad transgeneracional influye en el compromiso entre crecimiento vegetativo e inversión reproductiva, y los análisis multivariados permiten integrar múltiples dimensiones de respuesta en contextos heterogéneos.

Introducción

Caracteres relacionados a la aptitud

Arabidopsis thaliana es ampliamente utilizada como modelo para estudiar la plasticidad fenotípica, la adaptación y los mecanismos que regulan la aptitud en plantas (Arana & Picó, 2025). Se trata de una especie anual con un ciclo de vida comúnmente invernical que habita una gran diversidad de ambientes perturbados alrededor del mundo, donde predominan condiciones con alta disponibilidad de recursos y estrés estacional. En estos contextos ambientales, *Arabidopsis thaliana* muestra una estrategia adquisitiva dentro de la ecología funcional, priorizando el crecimiento rápido y la reproducción temprana por sobre la conservación de recursos (Leventhal et al., 2025; Zacchello et al., 2020). Su ciclo de vida corto le permite escapar del estrés estacional y adaptarse a ambientes heterogéneos. Esta capacidad de ajuste temporal está mediada por mecanismos como la plasticidad transgeneracional, que permite a organismos sésiles como las plantas responder de manera plástica a condiciones variables entre generaciones.

Los caracteres morfológicos foliares de esta especie reflejan su estrategia adquisitiva, alta área foliar específica (SLA), baja densidad y corta longevidad de las hojas, lo que se traduce en una alta tasa fotosintética. Estos caracteres están asociados al síndrome de evitación a la sombra, un ejemplo de plasticidad fenotípica que se activa ante señales de competencia y que impacta sobre distintos caracteres del fitness: elongación de pecíolos, aumento de SLA, reducción de la relación raíz-tallo y aceleración de la floración. Estas respuestas reflejan una compensación en la asignación de biomasa aérea y radicular y pueden variar en gradientes ambientales en esta especie (Montesinos-Navarro et al., 2012).

Durante este capítulo se analizaron caracteres morfológicos y reproductivos relacionados al *fitness* bajo distintos ambientes maternos. El *fitness* se mide en general como la producción total de semillas y los caracteres del ciclo de vida se relacionan con esta medida (Authier et al., 2023). Las interacciones entre el ambiente materno y el ambiente de la progenie regulan los fenotipos de forma tal que afectan su aptitud. Por ejemplo, en trabajos previos la biomasa aérea fue mayor cuando el sombreado de la generación madre y el de la descendencia coincidieron, mientras que la producción de semillas fue menor en condiciones de sombreado en la descendencia (Morgan & Donohue, 2022a).

Por otra parte, mecanismos epigenéticos como la metilación del ADN desempeñan un papel importante en la regulación de estos caracteres. La metilación responde a condiciones ambientales y puede transmitirse entre generaciones, mediando la plasticidad transgeneracional adaptativa. En *Polygonum persicaria*, la demetilación eliminó el efecto adaptativo de la sequía materna en la biomasa de la progenie (Herman & Sultan, 2016). En *Arabidopsis thaliana*, la metilación materna influye en caracteres tempranos como la germinación y es específica del ecotipo (Morgan & Donohue, 2022b). La demetilación del ADN materno o de la progenie afectaron caracteres a lo largo del ciclo de vida y en algunos casos la demetilación de la progenie resultó en una ventaja adaptativa bajo condiciones de sombreado persistente (Morgan & Donohue, 2022a).

En conjunto, los caracteres asociados a la aptitud evaluados permiten comprender cómo el ambiente materno y los mecanismos epigenéticos influyen en dimensiones clave del *fitness* en *Arabidopsis thaliana*. Variables como el área foliar, el peso y el tamaño de las semillas actúan como indicadores del nivel de inversión parental y de la calidad de la progenie.

Materiales y métodos

Caracteres fenológicos

Se realizó un seguimiento de las plantas durante todo el ciclo de vida con especial atención en el momento de floración y senescencia para registrar: diámetro de la roseta, área foliar al momento de aparición del botón floral, biomasa reproductiva y área de semillas.

Diámetro de Roseta

El diámetro de la roseta se midió utilizando una regla milimetrada, seleccionando dos hojas opuestas y midiendo desde la punta más distal de una hoja hasta la otra.

Área Foliar

El área foliar se midió utilizando la aplicación *Easy Leaf Area* (Easlon & Bloom, 2014). Mediante el uso de una referencia en forma de cuadrado de color rojo de 4 cm² se estimó el área foliar de las plantas al momento de la floración (aparición del botón floral) mediante una fotografía.

Biomasa Reproductiva

Luego de realizar el seguimiento de las plantas durante todo el ciclo de vida, se cosechó la parte aérea pesando la biomasa total aérea producida por éstas con una balanza de precisión (modelo *Adventurer* Ohaus) luego de un proceso de secado en estufa a 50°C por dos días.

Peso de Semillas

Para determinar la producción total de semillas de cada planta, se pesaron las semillas producidas contenidas en el tubo de microcentrífuga con una balanza de precisión (modelo *Adventurer*, Ohaus). El peso final de semillas se calculó restando el peso de los tubos vacíos (promedio calculado luego de tres pesajes de tubos vacíos del mismo lote de producción usado en la cosecha). Cuando el rango de error de la balanza y el peso promedio de los tubos producían un cálculo de peso de semillas ≤ 0 , las semillas se pesaron directamente sobre la balanza sobre un papel previamente tarado.

Área de Semillas

La medición del área de semillas se realizó sacando fotos con una cámara NIKON D3300 (ISO 1600, 1/160 s, f/8, 55 mm) de 50-60 semillas de cada réplica biológica con una hoja milimetrada como referencia para la escala (y un identificador). Las fotos fueron procesadas con el software ImageJ (Schneider et al., 2012). Inicialmente se estableció la escala de la imagen (en milímetros), utilizando como parámetros la distancia en píxeles (980) y una distancia conocida (10 mm). Luego se seleccionaron las semillas de cada foto y se transformaron los colores, modificando aquellos objetos dentro del espacio de coloración HSB con matiz entre 0 y 255, saturación entre 0 y 255 y brillo entre 0 y 195. Posteriormente se pasó la imagen a colores binarios (blanco y negro). Los objetos elegidos que no correspondían a semillas fueron eliminados manualmente y una línea de píxeles fue añadida entre las semillas que se encontraban superpuestas para considerar valores únicos de área y reducir la

sobreestimación de los valores. La medición final de área y el número total de semillas fue obtenido usando la herramienta *Analyze Particles*.

Análisis estadístico

Diámetro de roseta, área foliar, biomasa reproductiva, peso de semillas y área de semillas

Para analizar estadísticamente el diámetro de la roseta, el área foliar a floración, la biomasa reproductiva, el peso de semillas o el área de semillas para cada uno de los diferentes ecotipos frente a los tratamientos maternos, se ajustaron los datos a modelos lineales generalizados y test de máxima verosimilitud utilizando la función ‘*glm*’ (R Core Team, 2024) para estudiar la interacción entre los ecotipos y el tratamiento materno de temperatura (y Aza, según el caso). En primer lugar, se planteó un modelo general en el que se analizó el efecto de las variables explicatorias Tratamiento Materno, Ecotipo y su interacción (Trat. Temp x Ecotipo) sobre la variable respuesta diámetro de la roseta, área foliar, biomasa reproductiva, peso de semillas o área de semillas. En todos los casos las variables explicatorias son cualitativas y de efectos fijos y están cruzadas entre sí. Para el análisis se utilizó una familia de distribución Gamma con una función de enlace log. Se utilizó esta familia de distribución porque los datos no fueron normales y porque la distribución Gamma es adecuada para modelar variables continuas, positivas y asimétricas, como el diámetro o el área foliar en plantas. La función de enlace inversa garantiza que las predicciones del modelo permanezcan en el dominio positivo, lo cual es coherente con la naturaleza de las variables respuesta. Además, esta función permite modelar relaciones no lineales entre la media de la variable dependiente y los predictores, lo que puede capturar mejor la variabilidad observada en datos biológicos. La función Anova, de los paquetes ‘*car*’ y ‘*carData*’ (Fox & Weisberg, 2019), se utilizó para evaluar la interacción entre las variables explicatorias.

Multivariados

Para evaluar la respuesta fenotípica de la progenie en condiciones ambientales heterogéneas, se implementaron análisis multivariados mediante Análisis de Componentes Principales (PCA). Esta técnica permite reducir la dimensionalidad del conjunto de datos y explorar patrones de asociación entre variables, considerando simultáneamente el efecto del ecotipo y del ambiente materno.

Los análisis se realizaron en el software R (R Core Team, 2024), utilizando los paquetes ‘*FactoMineR*’ y ‘*factoextra*’ (Lê et al., 2008). Para cada año y fecha de siembra, se construyó una matriz de datos con variables cuantitativas estandarizadas (media cero y error estándar uno), a fin de evitar que las diferencias de escala entre variables influyeran en los resultados del PCA.

Para el año 2022 se utilizó una matriz compuesta por cinco variables: emergencia a campo, porcentaje de supervivencia, número de días a floración, temperatura acumulada promedio y número de hojas a floración. Se generaron etiquetas únicas combinando el nombre del ecotipo

y el tratamiento materno (vernalización o no vernalización), que fueron utilizadas como nombres de fila en la matriz estandarizada.

Para las dos siembras de otoño de 2023, se amplió el conjunto de variables incluyendo área y diámetro foliar, además de las variables utilizadas en 2022. Se realizaron dos PCA independientes, uno por fecha de siembra de otoño, sobre matrices estandarizadas. En ambos casos, se representaron los individuos (ecotipos bajo cada tratamiento materno) en biplots, junto con los vectores de las variables, lo que permitió interpretar las direcciones de mayor variación y las asociaciones entre caracteres.

Resultados Capítulo III: Caracteres relacionados a la aptitud

Los efectos maternos influyen en caracteres relacionados a la aptitud en la progenie

La contribución de la plasticidad transgeneracional en respuesta a ambientes pasados sobre la aptitud de las plantas puede ser evaluada observando distintas variables fenológicas medidas durante su ciclo de vida. En este estudio se evaluaron la biomasa aérea, el diámetro de roseta y el área foliar como aproximaciones a la acumulación de recursos por la planta madre: también el peso total de semillas (rendimiento) y el área de semillas (tamaño) como medida de inversión de la planta madre en recursos para la progenie. Estos datos nos indicaron cómo los efectos transgeneracionales pueden impactar en el compromiso de aptitud entre la generación materna y la progenie.

Acumulación de recursos de la primera generación: área y diámetro foliar

Para el área foliar, la interacción entre ambiente y ecotipo fue significativa, indicando que el tamaño de la roseta está modulado por el ambiente térmico (Figura 32, panel superior; Tabla 21A, Información suplementaria). Para los ecotipos Ra-0, Sha, Ler-0, Cvi-0 y Cen-0, el área foliar dependió del ambiente mientras que para los ecotipos Wa-1, Oy-0, Tu-0, Ws-0 y Öm2-1, no se encontraron diferencias significativas para esta variable (Tabla 21B, Información suplementaria). Ra-0, Sha, Cvi-0 y Cen-0 tuvieron una mayor área foliar cuando el tratamiento térmico fue NV, Ler-0 en cambio tuvo una mayor área cuando el tratamiento fue V.

Para la variable diámetro foliar de la roseta, el análisis estadístico reveló una interacción significativa entre el ambiente y el ecotipo (Tabla 22A, Información suplementaria) indicando que el ambiente modula la respuesta de los diferentes ecotipos (Figura 32, panel inferior). Al evaluar cada uno de los ecotipos por separado, se encontró que los ecotipos Wa-1, Sha, Oy-0 y Tu-0 no mostraron un efecto significativo del tratamiento de temperatura en el diámetro foliar de la roseta. Por otra parte, los ecotipos Cen-0, Cvi-0, Ler-0, Öm2-1, Ra-0 y Ws-0 sí mostraron diferencias significativas (Tabla 22B, Información suplementaria). Para Cen-0, Cvi-0 y Ra-0 el diámetro foliar fue mayor en las plantas tratadas con NV. De forma opuesta, en Ler-0, Öm2-1 y Ws-0 el diámetro foliar fue mayor para las plantas tratadas con V. Al comparar los patrones de ambas variables se observó que Cen-0, Cvi-0 y Ra-0 mostraron un mayor área y diámetro cuando el tratamiento fue NV mientras que Ler-0 mostró mayor área y diámetro cuando el tratamiento fue V (Figura 32).

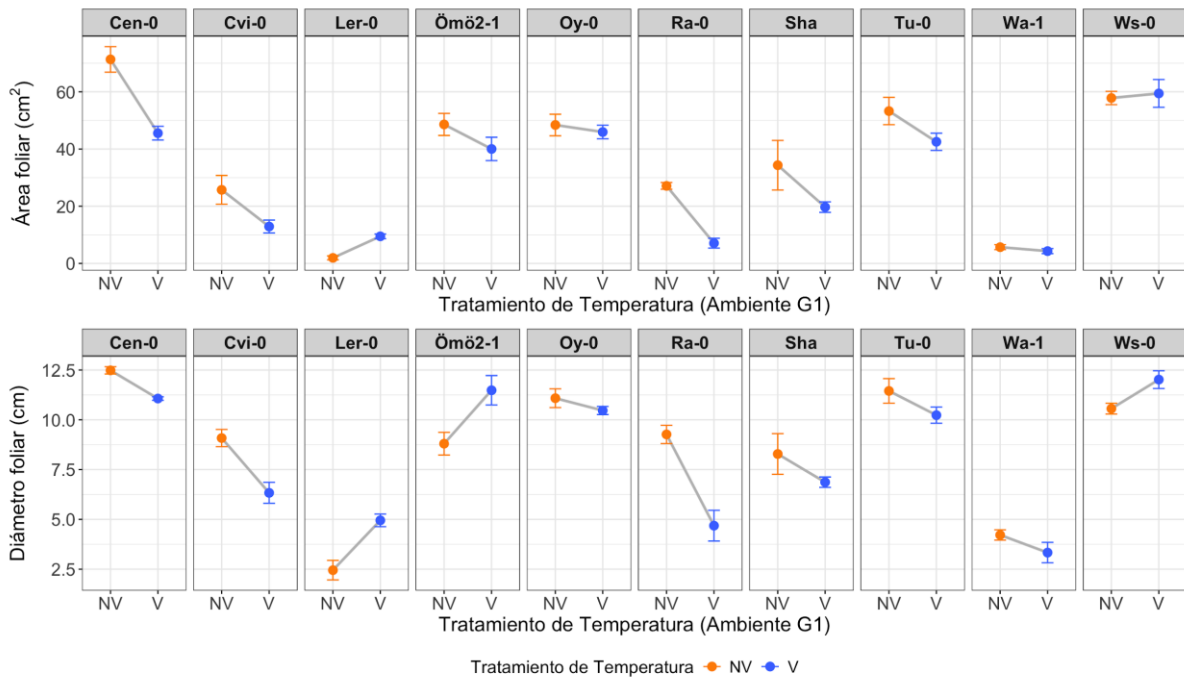


Figura 32. Normas de reacción que muestran el área (panel superior) y el diámetro (panel inferior) foliar producidos por la primera generación de plantas (G1). El eje y son las variables promedio producidas por la G1, el eje x muestra los tratamientos maternos de temperatura. En colores se muestran los tratamientos recibidos por las plantas madre (naranja, NV; azul, V). Se muestran los errores en forma de \pm error estándar. Los paneles muestran cada uno de los ecotipos en estudio.

Capacidad reproductiva en respuesta al ambiente de la primera generación: Peso y área de semillas de la segunda generación

Para el año 2023, el peso de semillas de la G2 mostro una interacción significativa entre el tratamiento materno y el ecotipo (Tabla 23A, Información suplementaria) indicando que al menos uno de los ecotipos mostro un efecto diferencial dependiendo del ambiente. El ecotipo Öm62-1 produjo muy poca cantidad de semillas y no fue posible registrar su peso. Cen-0, Cvi-0, Ler-0, Sha, Wa-1 y Ws-0 mostraron individualmente diferencias significativas para el tratamiento materno (Tabla 23B, Información suplementaria). Las respuestas de los ecotipos se pueden separar en dos grupos (Figura 33, panel superior): las plantas NV de Cen-0, Cvi-0, Sha y Wa-1 produjeron una mayor cantidad de semillas que las plantas V, mientras que Ler-0 y Ws-0 mostraron el patrón contrario.

Para determinar si el ambiente materno tuvo un efecto sobre el área de semillas de la progenie, se analizó estadísticamente la interacción entre ambiente materno y ecotipo. Se encontró que la interacción fue significativa (Tabla 24A, Información suplementaria), indicando que al menos uno de los ecotipos fue influenciado por el ambiente anterior. Al estudiar cómo fue la respuesta de cada uno de los ecotipos por separado, se encontró que todos los ecotipos, excepto Wa-1 y Öm62-1, mostraron diferencias significativas en el efecto del tratamiento materno para el área de semillas (Tabla 24B, Información suplementaria). Las respuestas se pueden separar en dos grupos (Figura 33, panel inferior): ecotipos que provenían de madres V produjeron semillas con mayor área (Cen-0, Oy-0 y Ws-0), o el caso contrario, ecotipos provenientes de madres NV produjeron semillas con mayor área (Cvi-0, Ler-0, Ra-0, Sha y Tu-0).

Al comparar los patrones de respuesta para ambas variables, se evidenció un compromiso entre producción (peso) y tamaño (área) de semillas para los ecotipos Cen-0, Ler-0 y Oy-0: Cen-0 y Oy-0 produjeron semillas más grandes, pero en menor cantidad cuando el tratamiento materno fue V, mientras que Ler-0 produjo semillas más grandes y en menor cantidad cuando el tratamiento materno fue NV. En Ra-0 y Tu-0 el área de las semillas fue mayor cuando el tratamiento materno fue NV y no hubo diferencias en el rendimiento, lo que indica que las plantas V produjeron una mayor cantidad de semillas, pero más pequeñas. En Sha, se observó un patrón contrastante: el rendimiento fue mayor para el tratamiento NV, pero no hubo diferencias en el área por lo que las plantas NV produjeron una mayor cantidad de semillas (Figura 33).

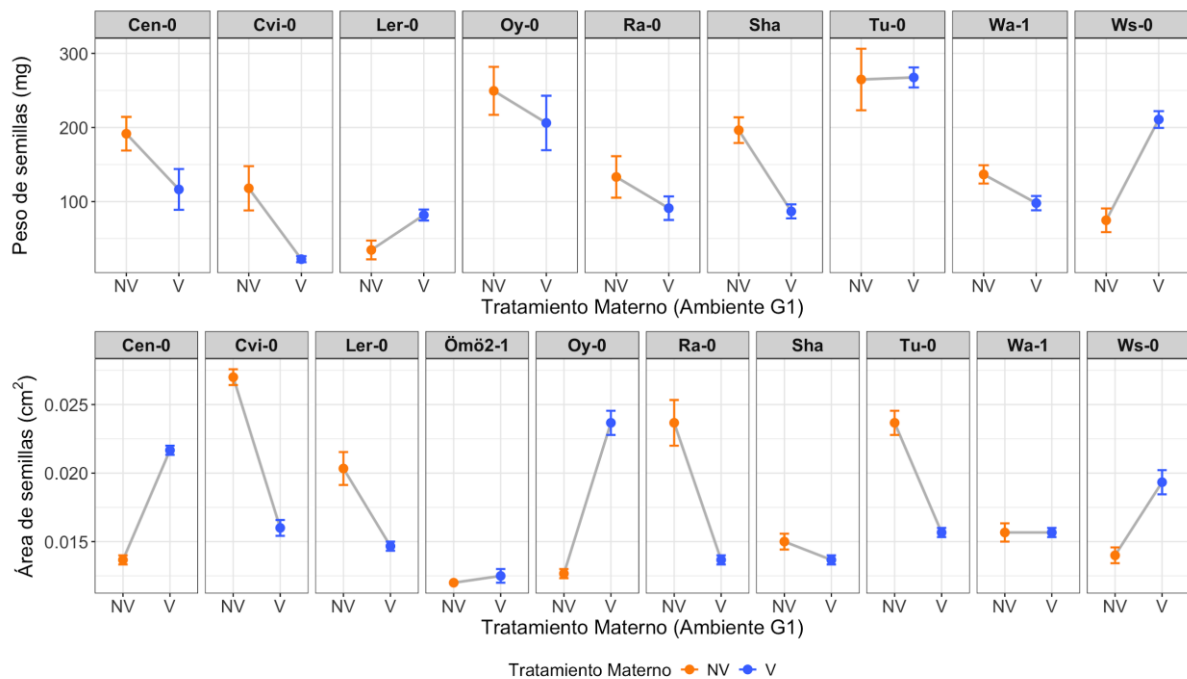


Figura 33. Normas de reacción que muestran el peso total (panel superior) y el área (panel inferior) de semillas (G2) producidas por la primera generación de plantas (G1). En el eje y se observan los promedios de las variables bajo estudio. El eje x muestra los tratamientos maternos de temperatura. En colores se muestran los tratamientos recibidos por las plantas madre (naranja, NV; azul, V). Se muestran los errores en forma de \pm error estándar. Los paneles muestran cada uno de los ecotipos.

Efecto de la combinación de ambientes a través de las generaciones: Diámetro y área foliar, y peso y área de semillas de las segunda y tercera generaciones

El diámetro foliar de la roseta de la segunda generación de plantas crecidas en condiciones controladas bajo tratamientos de temperatura respondió de forma no significativa para la triple interacción Ambiente G1 x Ambiente G2 x Ecotipo, sin embargo se encontraron efectos del ecotipo ($\chi^2 = 190.590$, g. l. = 9; p-valor $< 2.2e-16$), y del ambiente de la progenie ($\chi^2 = 7.831$, g. l. = 1; p-valor = 0.005) indicando que hay diferencias entre los ecotipos y que el ambiente más inmediato de la generación afecta esta variable (Figura 34a).

En cambio, al analizar el área foliar de la segunda generación de plantas crecidas en condiciones controladas con los tratamientos de temperatura de V y NV se encontró una triple

interacción significativa Ecotipo x Ambiente G1 x Ambiente G2 (Tabla 25A, Información suplementaria). Esto indica que al menos uno de los ecotipos se vio influenciado por la interacción entre el ambiente de la generación anterior y el ambiente más inmediato (Figura 34b). Al estudiar el efecto de la interacción entre ambientes para cada uno de los ecotipos, se encontró que los ecotipos Cen-0, Ra-0, Sha y Wa-1 respondieron significativamente a la interacción (Figura 34b; Tabla 25B, Información suplementaria). Cen-0 y Ra-0 produjeron una mayor área foliar cuando los ambientes fueron NV-NV. Por su lado, Sha produjo mayor área en las plantas tratadas con V-NV. Finalmente, Wa-1 no mostró diferencias en el área cuando el ambiente G1 fue NV, pero sí cuando fue V: las plantas V-V produjeron mayor área que las V-NV, contrario a la respuesta de Ra-0.

Al analizar el peso total de semillas G3 (Figura 34c) producido por la segunda generación, no se encontraron diferencias significativas para la interacción entre Ecotipo, Tratamiento G1 y Tratamiento G2 (Tabla 26A, Información suplementaria). Además, se analizó la interacción entre tratamientos (G1 y G2) para cada uno de los ecotipos por separado: la interacción no fue significativa para ninguno de los ecotipos en estudio, salvo para Ömö2-1 (Tabla 26B, Información suplementaria): las plantas V-V produjeron el mayor rendimiento y las plantas NV-NV el menor.

Para el área de semillas de la tercera generación, se encontró una interacción significativa entre Ecotipo x Ambiente G1 x Ambiente G2 (Tabla 27A, Información suplementaria), indicando que, para al menos uno de los ecotipos, hay un efecto combinado de los ambientes que determinan el tamaño de las semillas. Al analizar cada uno de los ecotipos por separado y su interacción entre los ambientes maternos se vio que los ecotipos Cvi-0, Tu-0 y Ws-0 mostraron un efecto de la combinación de ambientes (Figura 34d; Tabla 27B, Información suplementaria): para Cvi-0 y Tu-0 el tamaño de las semillas fue mayor cuando los tratamientos fueron NV-NV y no hubo diferencias cuando el ambiente de la G2 fue V; en cambio para Ws-0 el tamaño de las semillas fue menor cuando los tratamientos fueron V-V y no hubo diferencias cuando el ambiente G2 fue NV.

En conjunto, estos datos muestran que hay ecotipos como Ra-0 y Cen-0 que muestran mayor área foliar en condiciones NV-NV, lo que sugiere que el ambiente NV favorece el crecimiento vegetativo. Sha y Wa-1 respondieron de manera distinta, mostrando que la interacción entre generaciones y tratamientos afecta el área foliar de forma ecotipo-específica.

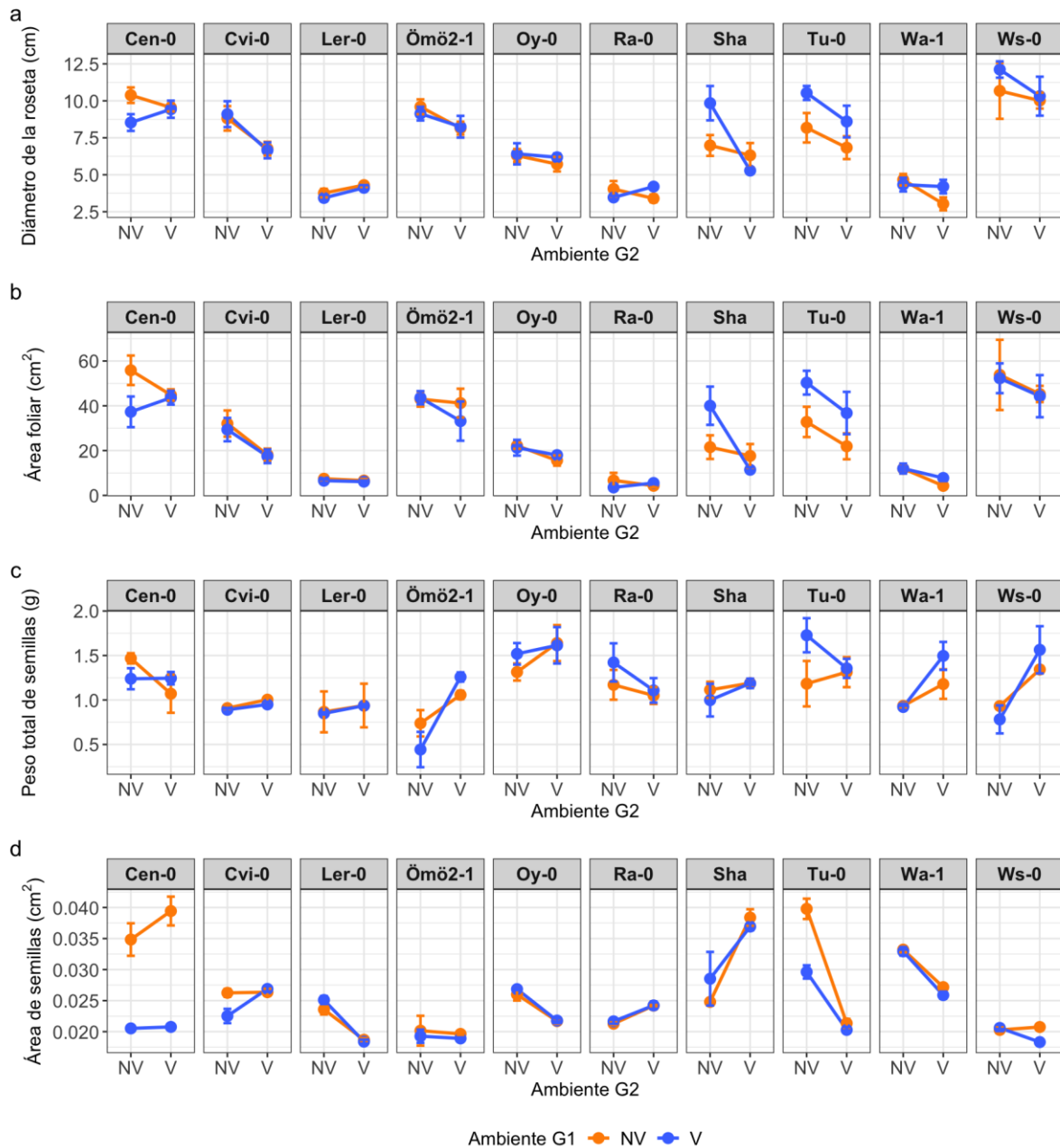


Figura 34. Rasgos de *fitness* en las segunda y tercera generaciones. a) Diámetro de la roseta, b) área foliar, c) peso total de semillas y d) área de semillas. Cada gráfico muestra un carácter relacionado con la aptitud para los 10 ecotipos en estudio (cada panel es un ecotipo). Los colores indican el ambiente de la G1: naranja, NV; azul, V. El eje x es el ambiente de la G2. Los errores se muestran en forma de \pm error estándar.

Además, no se encontró una correlación directa entre mayor área foliar y mayor peso de semillas en la mayoría de los ecotipos (Figura 34 b y c). Öm2-1 es el único ecotipo con una respuesta significativa en peso de semillas, siendo mayor en V-V. Sin embargo, no tiene la mayor área foliar. Esto sugiere que una mayor área foliar en respuesta a la combinación de ambientes no garantiza mayor rendimiento, al menos en las condiciones experimentales utilizadas.

Ecotipos como Cvi-0 y Tu-0 mostraron mayor área de semillas en NV-NV, lo que coincide con una mayor área foliar en esas condiciones. En cambio, Ws-0 tuvo menor área de semillas en V-V, lo que podría estar relacionado con una menor área foliar en ese tratamiento. Entonces para el área foliar y el tamaño de las semillas se encontró una relación positiva para los ecotipos en estudio.

Cabe destacar que todas estas respuestas fueron ecotipo-específicas, indicando un fuerte efecto del componente genético en el *fitness* bajo las condiciones estudiadas.

Interacción entre el ambiente de temperatura y la inducción de cambios en la metilación del ADN: Diámetro y área foliar de la primera generación

El área foliar de la G1 respondió de manera significativa a la triple interacción entre el Ecotipo y los tratamientos (Tratamiento Temperatura x Tratamiento Aza x Ecotipo, $\chi^2 = 78.41$; g.l. = 2; p-valor = $< 2e-16$), indicando que tanto la temperatura como la Aza modificaron el área foliar de al menos uno de los ecotipos en estudio (Figura 35, panel superior). Profundizando el análisis, se vio que para Cen-0 no hubo diferencia en el área foliar para plantas tratadas con Aza respecto al Control, pero sí hubo un efecto del tratamiento de temperatura sobre el área foliar: las plantas NV desarrollaron un área mayor que las plantas V ($\chi^2 = 49.925$; g.l. = 1; p-valor = $1.598e-12$). Para Ler-0 y Tu-0, la combinación de ambientes modificó el área foliar con efectos opuestos: en Ler-0 las plantas V-Aza desarrollaron un área foliar mayor, mientras que en Tu-0 lo hicieron las plantas NV-C (Figura 35, panel superior).

Para el diámetro foliar, el análisis de la triple interacción entre los ambientes y los ecotipos dio no significativo. Nuevamente, al revisar los modelos por ecotipo, Cen-0 no mostró un efecto del tratamiento con Aza pero sí un efecto del tratamiento de temperatura ($\chi^2 = 20.2760$; g.l. = 1; p-valor = $6.704e-06$): las plantas NV desarrollaron un mayor diámetro que las plantas V (Figura 35, panel inferior). Para Ler-0 se encontraron efectos de los tratamientos por separado: la Aza aumentó el diámetro foliar en plantas que atravesaron la vernalización. Por último, para Tu-0 se encontró una interacción significativa entre los ambientes indicando que ambos modulan el diámetro foliar en forma conjunta (Figura 35, panel inferior).

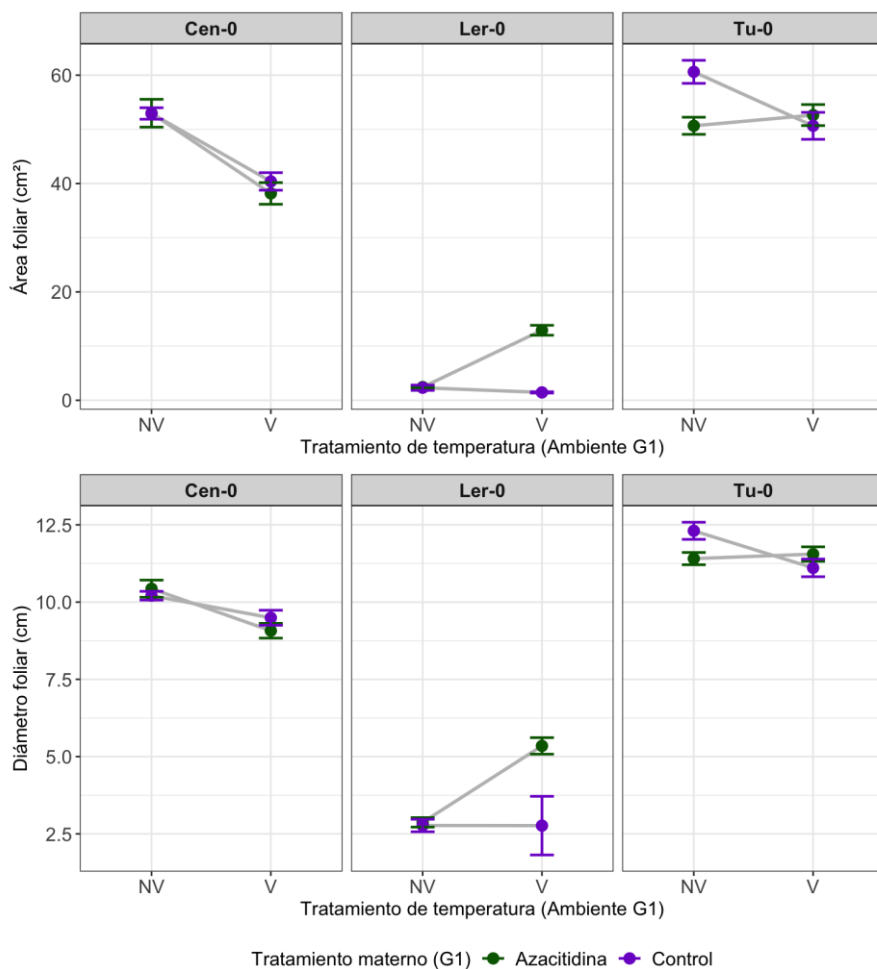


Figura 35. Normas de reacción que muestran el área y el diámetro foliar producidos por la primera generación de plantas (G1). El eje y es el área foliar (panel superior) y el diámetro foliar (panel inferior) promedio producidas por la G1, el eje x muestra los tratamientos maternos de temperatura. En colores se muestran los tratamientos de Azacitidina - Control recibidos por las plantas madre (verde, Aza; violeta, Control). Se muestran los errores en forma de \pm error estándar.

Capacidad reproductiva en respuesta a la combinación de ambientes de temperatura y Azacitidina: Peso y área de semillas de la segunda generación

La respuesta del peso total de semillas no mostró una interacción significativa entre el Ecotipo y los tratamientos de temperatura y Aza en el modelo general ($\chi^2 = 1,092$; g.l. = 2; p-valor = 0,579). Pero al analizar caso por caso, se encontró una interacción significativa entre ambos tratamientos para Ler-0. Esto indica que, para este ecotipo, el peso de las semillas se vio afectado por ambos tratamientos maternos: para aquellas plantas crecidas en ambiente NV, las que fueron tratadas con Aza produjeron un mayor peso total de semillas que aquellas crecidas en condición Control (Figura 36, panel superior).

Además, tampoco se encontró una interacción significativa entre el ecotipo y los tratamientos de temperatura y Aza para el área de semillas. El análisis de la interacción entre los tratamientos para cada uno de los ecotipos por separado tampoco mostró una interacción significativa,

indicando que los tratamientos no tuvieron efecto en el área de semillas de la progenie (Figura 36, panel inferior).

Encontrar diferencias en el peso de semillas producidas y no en el área de estas implica que se produjeron más o menos semillas (dependiendo el caso), pero que el tamaño de estas no se vio afectado como en años anteriores.

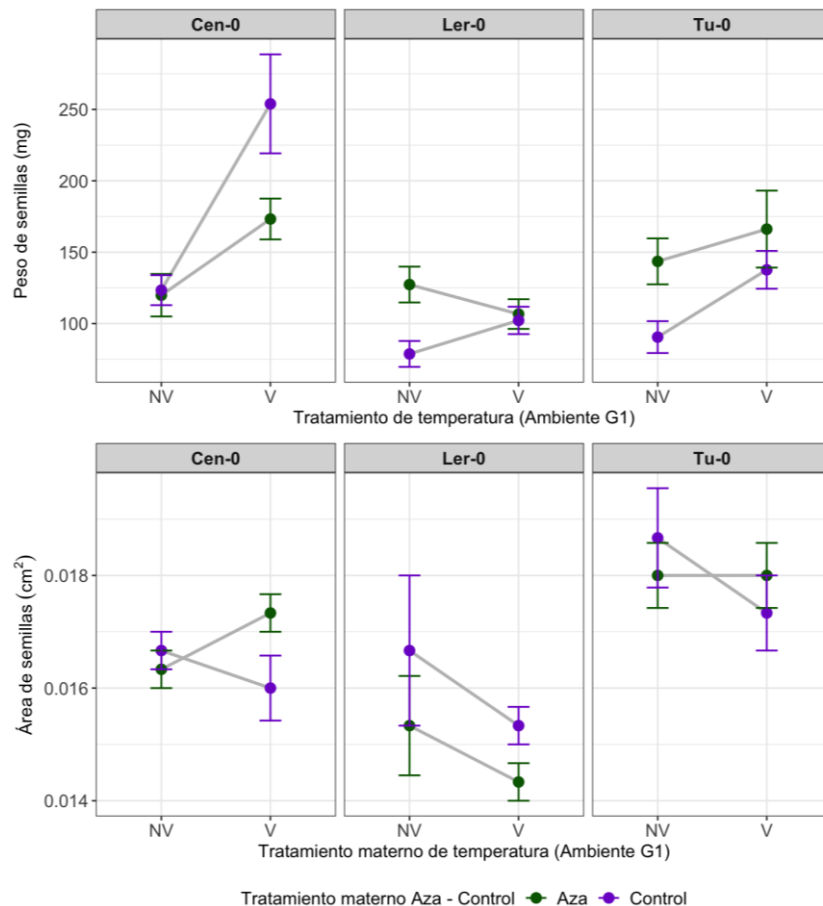


Figura 36. Normas de reacción que muestran el peso y área de semillas (G2) producidas por la primera generación de plantas (G1). El eje y es el peso (panel superior) y el área de semillas (panel inferior) promedio producidas por la G1 en mg y cm², respectivamente. El eje x muestra los tratamientos maternos de temperatura. En colores se muestran los tratamientos de Aza - Control recibidos por las plantas madre (verde, Aza; violeta, Control). Se muestran los errores en forma de \pm error estándar.

Caracteres fenológicos en condiciones heterogéneas: biomasa aérea, diámetro y área foliar en el campo, segundo y tercer ensayo de campo

A continuación, se muestran los resultados obtenidos para los ensayos de campo de 2023 y 2024 luego de cosechadas las plantas y analizados los datos para la biomasa aérea, el diámetro y el área foliar.

Segundo año

Para la primera siembra de otoño de 2023, el área y el diámetro foliar tuvieron un comportamiento similar para cada uno de los ecotipos (Figura 37, paneles superior y medio). Al realizar el análisis estadístico no se encontró un efecto de la interacción entre el ecotipo y

el tratamiento materno en el diámetro foliar ($\chi^2 = 8,66$; g.l. = 8, p-valor = 0,371) pero sí en el área foliar de la G2 ($\chi^2 = 16,06$; g.l. = 8, p-valor = 0,041), indicando que para al menos uno de los caracteres estudiados se encontró un efecto del ambiente materno en la producción de hojas que depende del ecotipo.

Analizando la respuesta de cada uno de los ecotipos al tratamiento materno, se encontró un efecto significativo del ambiente para el ecotipo Sha sobre el área foliar en campo ($\chi^2 = 8.23$, g.l. = 1, p-valor = 0,004) y también sobre el diámetro foliar ($\chi^2 = 11,751$; g.l. = 1; p-valor = 0.001), en este caso la progenie proveniente de madres V produjo una mayor área y diámetro que la de madres NV (Figura 37, panel superior).

La biomasa aérea de la segunda generación no mostró una interacción significativa entre el tratamiento materno y el ecotipo ($\chi^2 = 6,024$; g.l. = 8; p-valor = 0.645), indicando que no hay un efecto del tratamiento materno en la producción de biomasa aérea. Sin embargo, se observó un fuerte efecto del ecotipo ($\chi^2 = 44.020$; g.l. = 9; p-valor = 1.399e-06). Al profundizar el análisis para evaluar la respuesta individual, se encontró que el ecotipo Cen-0 mostró diferencias en la biomasa aérea ($\chi^2 = 4.25$; g.l. = 1; p-valor = 0.03912): las plantas que mostraron mayor biomasa fueron las que provenían de madres V (Figura 37, panel inferior).

Para los ecotipos Cen-0, Cvi-0, Ler-0, Tu-0, Wa-1 y Ws-0 se observó que un mayor área y diámetro foliar se tradujo en una mayor acumulación de biomasa.

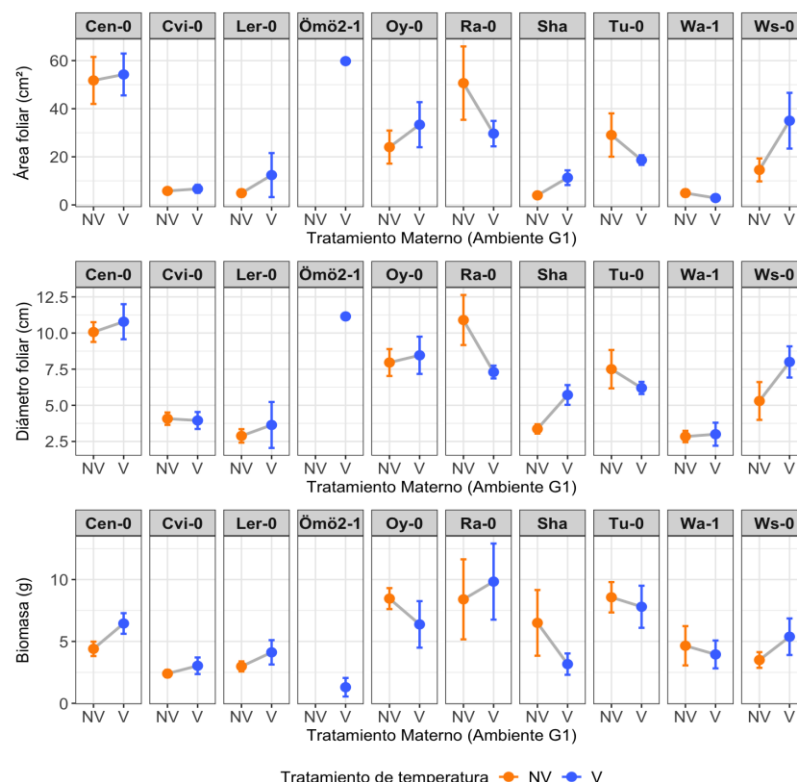


Figura 37. Normas de reacción que muestran el área foliar, el diámetro foliar y la biomasa aérea de plantas (G2) producidas por la primera generación de plantas (G1) durante la primera siembra de otoño del año 2023. El eje y es el promedio de cada una de las variables, el eje x muestra los tratamientos maternos de temperatura. En colores se muestran los tratamientos recibidos por las plantas madre (naranja, NV; azul, V). Se muestran los errores en forma de \pm error estándar.

Para el área foliar de la segunda siembra de otoño se encontró una interacción significativa entre el tratamiento materno y el ecotipo, indicando que al menos uno de los ecotipos vio afectada su área foliar dependiendo del tratamiento materno. Cvi-0, Oy-0 y Ra-0 mostraron un efecto del tratamiento materno sobre el área foliar. Cvi-0 y Oy-0 desarrollaron un área foliar mayor cuando provinieron de madres V, mientras que Ra-0 se comportó de forma contraria (Figura 38, panel superior).

Para el diámetro foliar se observó un patrón similar al área: si bien no se encontró una interacción significativa entre las variables ($\chi^2 = 15.136$; g.l. = 8; p-valor = 0.056), Cvi-0 ($\chi^2 = 6.581$; g.l. = 1; p-valor = 0.010), Oy-0 ($\chi^2 = 5.648$; g.l. = 1; p-valor = 0.017) y Ra-0 ($\chi^2 = 4.581$; g.l. = 1; p-valor = 0.032) mostraron un efecto del ambiente materno sobre el diámetro foliar (Figura 38, panel medio). Por un lado, las plantas de Cvi-0 y Oy-0 mostraron un diámetro mayor cuando las plantas de la primera generación experimentaron vernalización, mientras que las de Ra-0 mostraron el patrón contrario.

Al analizar la biomasa aérea, no se encontró un efecto significativo en la interacción entre ecotipo y efecto materno (Tabla 29A, Información suplementaria). Sin embargo, nuevamente se observó un fuerte efecto del ecotipo. Al evaluar los resultados del análisis por ecotipo en particular, Ra-0 y Oy-0 mostraron un efecto significativo del tratamiento materno en la producción de biomasa aérea, mostrando mayor y menor acumulación cuando las plantas de la primera generación experimentaron vernalización respectivamente (Figura 38, panel inferior; Tabla 29B, Información suplementaria).

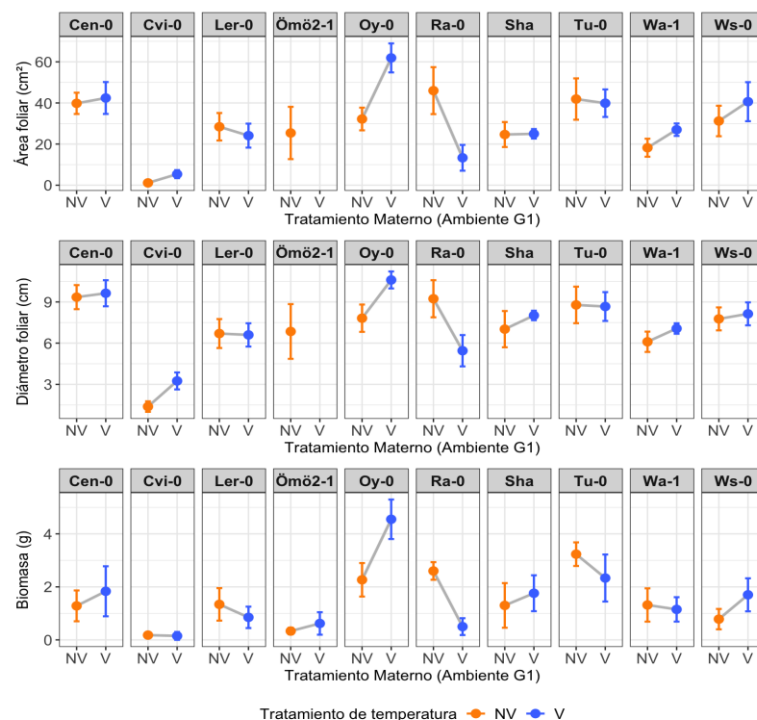


Figura 38. Normas de reacción que muestran el área foliar, el diámetro foliar y la la biomasa aérea de plantas (G2) producidas por la primera generación de plantas (G1) durante la segunda siembra de otoño del año 2023. El eje y son los promedios de las variables, el eje x muestra los tratamientos maternos de temperatura. En colores se muestran los tratamientos recibidos por las plantas madre (naranja, NV; azul, V). Se muestran los errores en forma de \pm error estándar.

En las siembras de primavera del ensayo del año 2023 el nivel de supervivencia no permitió sacar conclusiones respecto a los caracteres mencionados en esta sección.

Tercer año

Para la primera siembra de otoño de 2024 no se encontró una interacción significativa de los tratamientos y el ecotipo para ninguna de las variables analizadas (Ecotipo x Tratamiento Vernalización x Tratamiento Aza, ($\chi^2 = 0,97$; g.l. = 2; p-valor = 0,324). Sin embargo, los patrones observados coinciden: para Cen-0, el diámetro y el área de las plantas que provinieron de madres V-C presentaron valores mayores de las variables (Figura 39, paneles superior y medio).

Si bien no se encontraron efectos de los tratamientos sobre la biomasa aérea de plantas G2 crecidas en el campo, en la respuesta de Tu-0 parece haber un patrón de interacción, aunque los resultados no fueron significativos (probablemente dado el bajo número de sobrevivientes y, por tanto, réplicas, que se obtuvieron al final del ensayo).

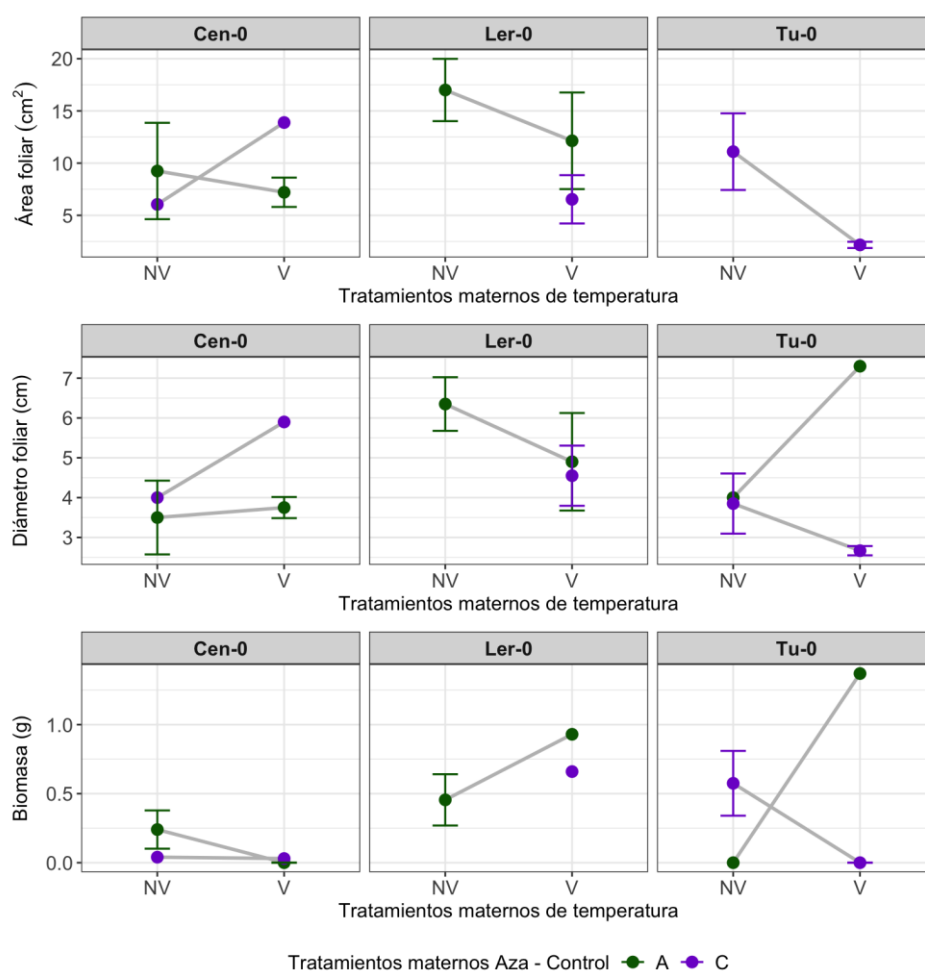


Figura 39. Normas de reacción que muestran el área foliar, el diámetro foliar y la biomasa aérea de plantas (G2) producidas por la primera generación de plantas (G1). El eje y son los promedios de las variables, el eje x muestra los tratamientos maternos de temperatura (V y NV). En colores se muestran los tratamientos químicos recibidos por las plantas madre (verde, Aza; violeta, C). Se muestran los errores en forma de \pm error estándar.

Para la segunda siembra de otoño tampoco se encontraron efectos de los tratamientos maternos, tanto Aza como temperatura, para el área foliar ($\chi^2 = 2.050$; g.l. = 2; p-valor = 0.359), diámetro foliar ($\chi^2 = 0.199$; g.l. = 2; p-valor = 0.905) y producción de biomasa aérea ($\chi^2 = 2.725$; g.l. = 2; p-valor = 0.099) de la progenie en el campo. Sin embargo, los patrones de respuesta de la progenie frente a los tratamientos maternos fueron similares. Para Cen-0, las plantas provenientes de madres Control produjeron mayor área y diámetro foliar que aquellas provenientes de madres tratadas con Aza tanto para el tratamiento V como para NV (Figura 40). Para Tu-0 V-C se observaron los mayores valores de las variables analizadas, lo que sugiere un efecto negativo del tratamiento de Aza para esta fecha de siembra.

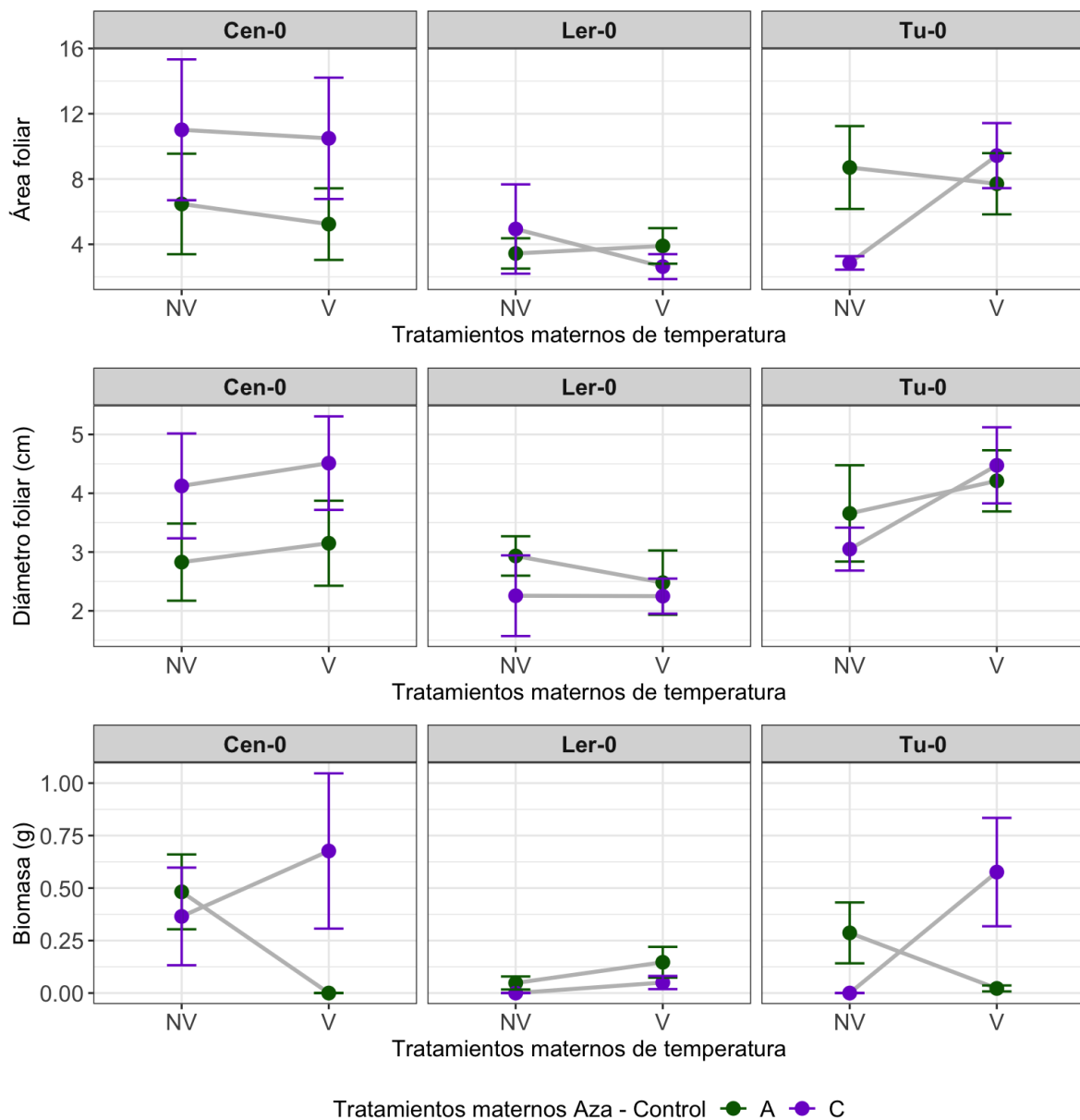


Figura 40. Normas de reacción que muestran el área foliar, el diámetro foliar y la biomasa aérea de plantas (G2) producidas por la primera generación de plantas (G1). El eje y son los promedios de las variables, el eje x muestra los tratamientos maternos de temperatura (NV, V). En colores se muestran los tratamientos de Aza - Control recibidos por las plantas madre (verde, Aza; violeta, Control). Se muestran los errores en forma de \pm error estándar.

Patrones, asociaciones y contribución relativa de las variables: Análisis de Componentes Principales

El estudio de la respuesta de la progenie en condiciones heterogéneas y novedosas requiere incluir herramientas de análisis que contemplen la multidimensionalidad de las variables que afectan el objeto de estudio. Los análisis multivariados permiten este abordaje, siendo posible asociar numerosas variables a la respuesta de los ecotipos en el campo.

Primer año

Para el año 2022, se incluyeron las variables proporción de emergencia, temperatura acumulada promedio hasta floración, porcentaje de supervivencia a floración, número de hojas a floración y número de días a floración para construir un PCA de las variables ecotipo y tratamiento materno que permitió encontrar asociaciones y contribuciones a la respuesta a ambientes heterogéneos.

El análisis de componentes principales (Figura 41, PCA) reveló una clara separación entre los tratamientos maternos V (círculos azules) y NV (triángulos naranjas), lo que sugiere que el ambiente materno influyó significativamente en la expresión de los caracteres evaluados en el campo.

El primer eje del análisis (Dim1, 38,8%) está fuertemente influenciado por el tiempo a floración (número de días, Dias.campo, y número de hojas, Hojas.campo) y la supervivencia a floración. Los vectores de estas variables se dirigen hacia la derecha del eje, indicando que los ecotipos ubicados en esa dirección tardan más en florecer y desarrollan más hojas (Ömö2-1 V y NV y Tu-0 NV en contraposición a Cvi-0 NV y Sha V, por nombrar algunos ejemplos). El segundo eje (Dim2, 26.5%) está relacionado con la emergencia y la temperatura acumulada. Los vectores apuntan hacia arriba, lo que sugiere que los ecotipos en esa zona del gráfico presentan mayor emergencia, mayor temperatura acumulada a floración y mayor supervivencia a floración (Ra-0 NV como representante).

El cuadrante superior derecho está dominado por ecotipos con tratamientos NV asociados a mayor número de hojas y días a floración, junto con una alta emergencia y supervivencia. En el cuadrante inferior derecho también se encuentran representantes del tratamiento NV, pero también hay ecotipos V, asociados a una baja emergencia y alto número de hojas y días a floración. Para el cuadrante superior izquierdo se ubicaron ecotipos asociados a un menor número de hojas y días a floración, pero mayor emergencia y supervivencia. Por último, el cuadrante inferior izquierdo muestra ecotipos asociados a baja emergencia, baja supervivencia, bajo número de hojas y días a floración.

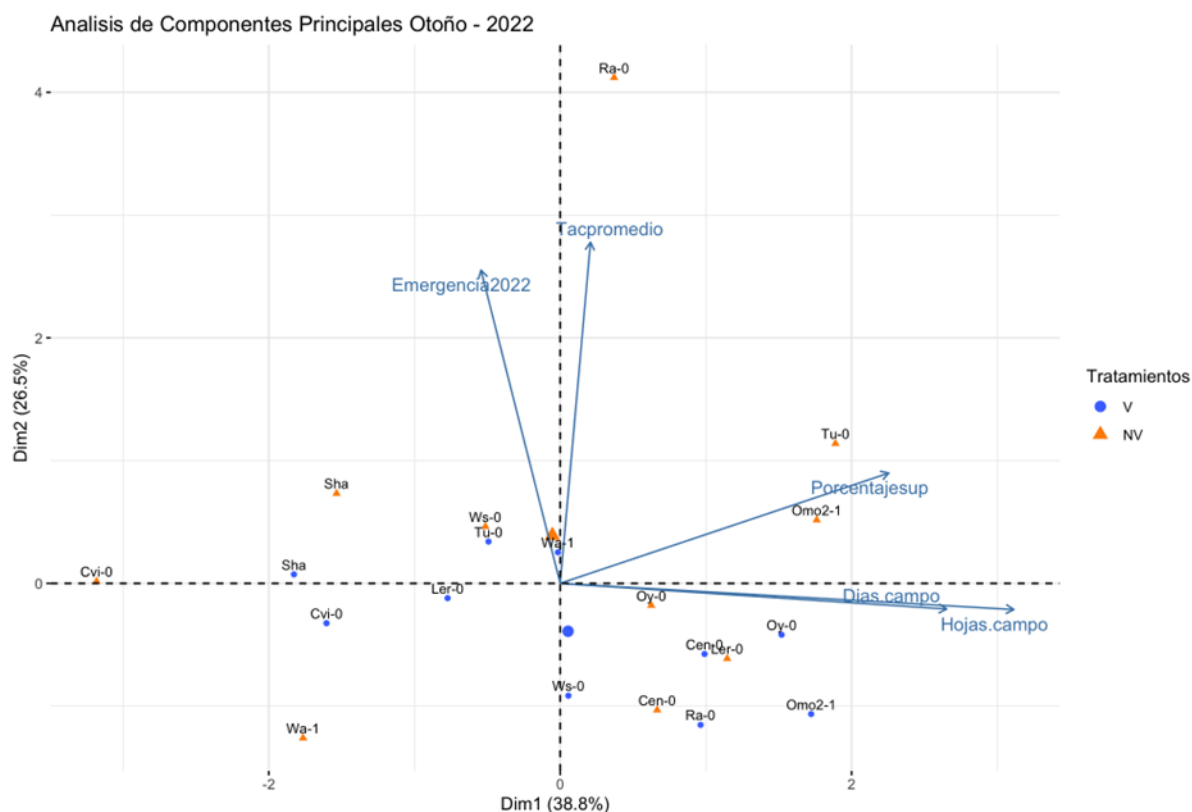


Figura 41. Análisis de Componentes Principales (PCA) de la siembra de otoño del año 2022. Se incluyen cinco variables: emergencia a campo (Emergencia2022), temperatura acumulada promedio (Tacpromedio), número de hojas a floración (Hojas.campo), número de días a floración (Dias.campo) y porcentaje de supervivencia (Porcentajesup). Los puntos representan distintos ecotipos bajo dos tratamientos maternos: V (círculos azules) y NV (triángulos naranjas).

Segundo año

Para el año 2023 se incluyeron las variables: emergencia, temperatura acumulada promedio, supervivencia a floración, número de hojas a floración, número de días a floración, área y diámetro foliar para construir los PCA correspondientes a las dos siembras de otoño.

El análisis muestra una clara separación debido al tratamiento materno. En general, la combinación de ejes para la primera fecha de siembra explicó el 76,4% de la variabilidad: el primer eje explicó el 55,2%, capturando más de la mitad de la variabilidad total del conjunto de datos, mientras que el segundo explicó 21,2% de la variación (Figura 42). La primera dimensión separó los datos de acuerdo con el tiempo (días y número de hojas, y temperatura acumulada) y tamaño de las plantas (área foliar) a floración: del lado derecho del gráfico se encuentran las plantas más grandes y que tardaron más tiempo en florecer. En cambio, la segunda dimensión separa los datos por proporción de emergencia y supervivencia, y diámetro foliar: en la porción superior del gráfico se encuentran los ecotipos que más emergieron, sobrevivieron y crecieron en ancho.

El cuadrante superior derecho está asociado con una emergencia alta y diámetro foliar alto, los ecotipos que corresponden con estas características son Cen-0 y Oy-0 de los tratamientos maternos V y NV. El cuadrante inferior derecho agrupa ecotipos con área foliar mayor,

temperatura acumulada mayor y mayor número de hojas y días a floración, pero con baja emergencia y supervivencia, lo que sugiere una estrategia conservadora, con inversión en desarrollo vegetativo antes de la reproducción. El cuadrante superior izquierdo se asoció con altos valores de supervivencia y emergencia, además de floración rápida, Ler-0, Tu-0 y Sha son ecotipos presentes en esta zona del gráfico. El cuadrante inferior izquierdo agrupa ecotipos con bajos niveles en todas las variables, mostrando una posible adaptación baja a las condiciones de otoño de la primera siembra del año 2023.

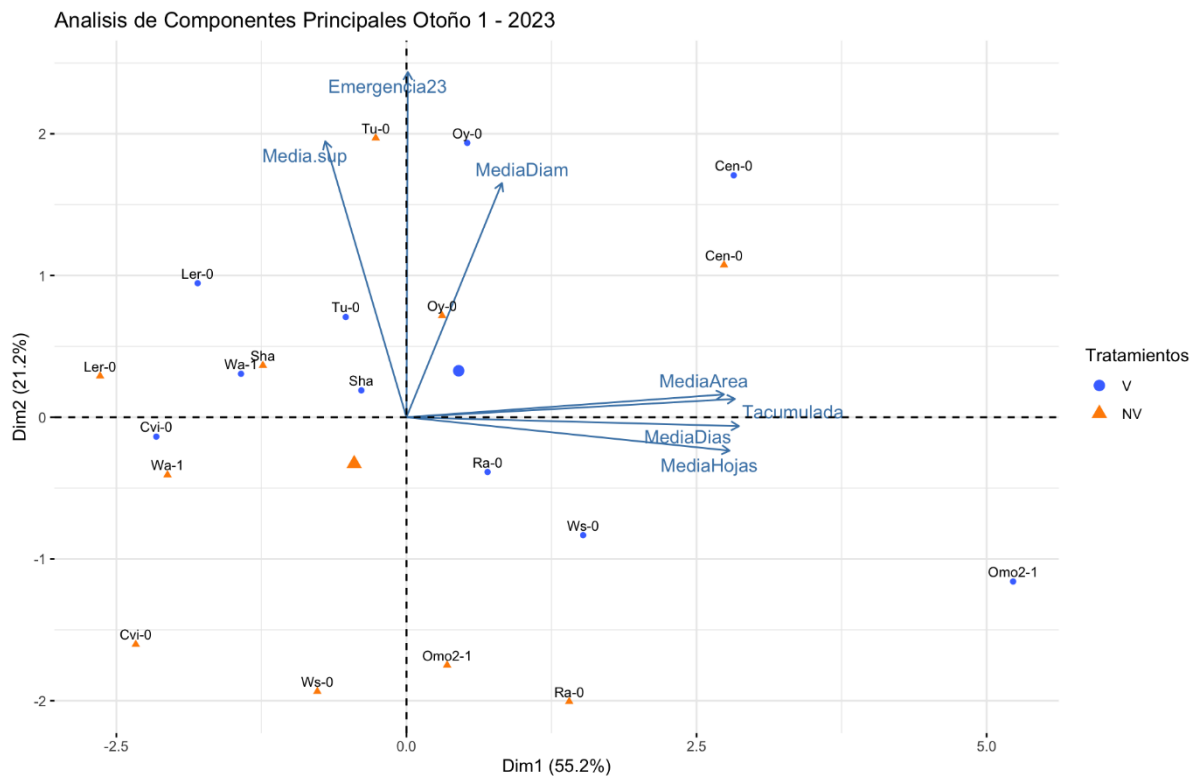


Figura 42. Análisis de Componentes Principales (PCA) de la primera siembra de otoño del año 2023. Se incluyen siete variables: emergencia a campo (Emergencia23), temperatura acumulada promedio (Tacumulada), número de hojas a floración (MediaHojas), número de días a floración (MediaDias), porcentaje de supervivencia (Media.sup), área foliar (MediaArea) y diámetro foliar (MediaDiam). Los puntos representan distintos ecotipos bajo dos tratamientos maternos: V (círculos azules) y NV (triángulos naranjas).

Para la segunda siembra de otoño (Figura 43) el primer eje explicó la mayor parte de la variabilidad (55,2%) y el segundo eje el 21,2%. En general, en la zona derecha del gráfico se ubican las plantas que tardaron más tiempo en florecer y son de mayor tamaño, mientras que en la región superior se encuentran los ecotipos que sobrevivieron más y en la inferior los que más emergieron.

El cuadrante superior derecho asocia, para los ecotipos allí presentes, una supervivencia alta, diámetro foliar mayor, un número de días a floración mayor y también altos valores de temperatura acumulada a floración. El cuadrante inferior derecho asoció a los ecotipos Oy-0 y Tu-0 (también Cen-0 V) con emergencia alta, y alto número de hojas y área foliar. El cuadrante superior izquierdo (Sha, Cvi-0 y otros) muestra ecotipos con baja emergencia y bajo número

de hojas. Por último, el cuadrante inferior izquierdo, indica una asociación negativa con las variables analizadas.

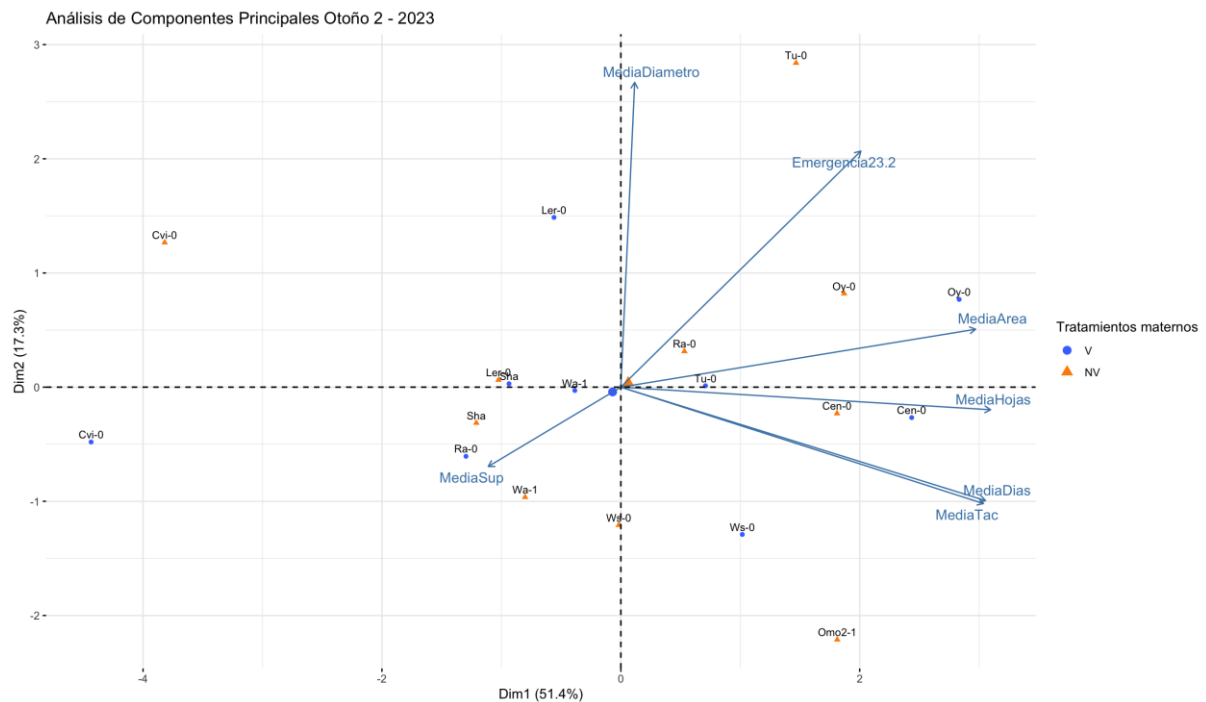


Figura 43. Análisis de Componentes Principales (PCA) de la segunda siembra de otoño del año 2023. Se incluyen siete variables: emergencia a campo (Emergencia23.2), temperatura acumulada promedio (MediaTac), número de hojas a floración (MediaHojas), número de días a floración (MediaDias), porcentaje de supervivencia (MediaSup), área foliar (MediaArea) y diámetro foliar (MediaDiametro). Los puntos representan distintos ecotipos bajo dos tratamientos maternos: V (círculos azules) y NV (triángulos naranjas).¹

Para la segunda siembra de otoño el primer eje explicó la mayor parte de la variación (51,4%) y el segundo eje el 17,3%. En conjunto, ambos ejes explican más de la mitad de la variación. En general, en la zona derecha del gráfico se ubican las plantas que tardaron más tiempo en florecer y tienen mayor área foliar, mientras que en la región inferior se encuentran los ecotipos que sobrevivieron más y en la superior los que más emergieron y tienen mayor tamaño.

El cuadrante superior derecho agrupó a los ecotipos con mayor emergencia y desarrollo foliar indicando una inversión de recursos en el desarrollo vegetativo (Oy-0, Tu-0 y Ra-0 NV). En el cuadrante inferior derecho también se encuentran variables asociadas al desarrollo vegetativo (Cen-0 y Ws-0). En el cuadrante inferior izquierdo se encuentran ecotipos con baja emergencia, pero alta supervivencia y en el cuadrante superior izquierdo ecotipos con bajo desarrollo vegetativo. Öm2-1 V fue excluido del análisis por considerarse un *outlier* (Información complementaria, Figura S5; PCA con todos los ecotipos y tratamientos maternos).

¹ Este PCA no incluye Öm2-1 V por considerarlo un *outlier*, para el gráfico completo ver Figura S5.

Tercer año

Para el año 2024 se incluyeron las siguientes variables: emergencia, temperatura acumulada promedio, supervivencia, número de hojas a floración, número de días a floración, y área y diámetro foliar para construir PCA correspondientes a las dos siembras de otoño.

En general, la combinación de ejes para la primera fecha de siembra explicó el 56,4% de la variabilidad, con el primer eje explicando el 30,3% y el segundo 26,1% de la variación (Figura 44). Nuevamente, el análisis separó los datos de acuerdo a los tratamientos maternos. En general, la zona derecha del gráfico agrupa los ecotipos de mayor tamaño, y proporción de emergencia y supervivencia; mientras que la región superior a los que más tardaron en florecer.

El cuadrante superior derecho concentra las variables que están asociadas al desarrollo vegetativo y al establecimiento en campo. Los ecotipos en este cuadrante expresan una estrategia con buena emergencia, supervivencia y crecimiento antes de la floración. El cuadrante superior izquierdo es una zona del gráfico opuesta a las variables de desarrollo, lo que indica valores bajos en emergencia y menor crecimiento, a pesar de la floración tardía. Podría representar una estrategia deficiente o una respuesta limitada a las condiciones ambientales del otoño 2024. En el cuadrante inferior derecho los ecotipos muestran alta emergencia y supervivencia, pero floración rápida. El cuadrante inferior izquierdo agrupa ecotipos con floración rápida, baja emergencia y supervivencia.

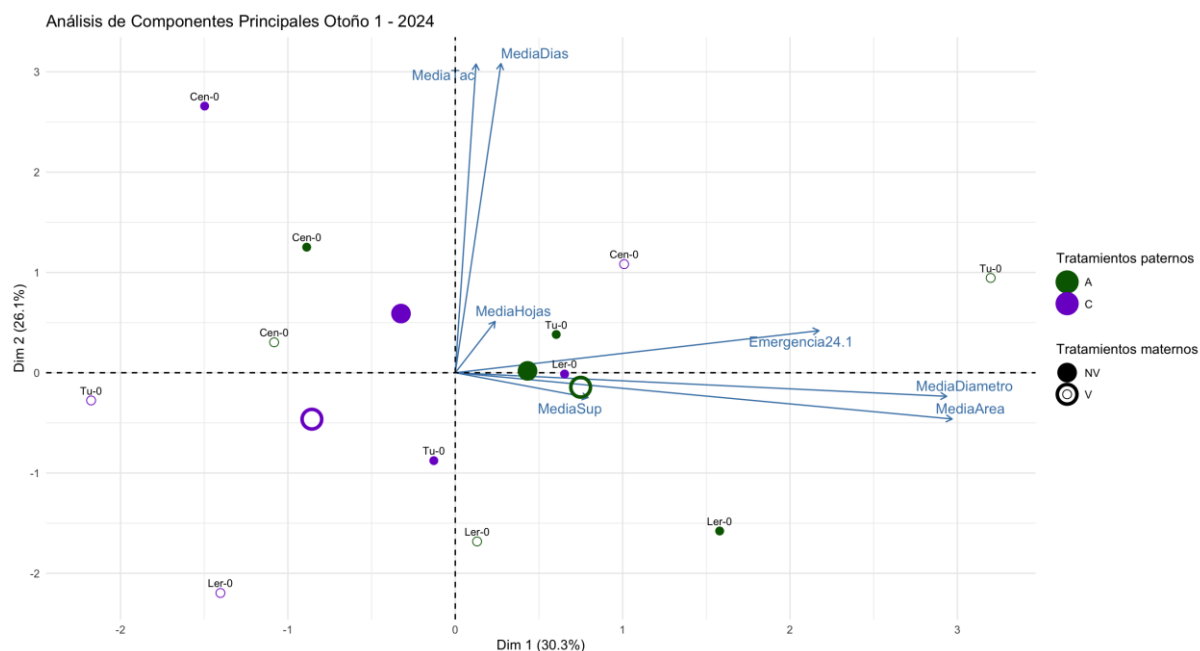


Figura 44. Análisis de Componentes Principales (PCA) de la primera siembra de otoño del año 2024. Se incluyen siete variables: emergencia a campo (Emergencia24.1), temperatura acumulada promedio (MediaTac), número de hojas a floración (MediaHojas), número de días a floración (MediaDias), porcentaje de supervivencia (MediaSup), área foliar (MediaArea) y diámetro foliar (MediaDiametro). Los puntos representan distintos ecotipos bajo cuatro tratamientos maternos: V-A (círculos verdes vacíos), NV-A (círculos llenos verdes); V-C (círculos vacíos violetas); NV-C (círculos llenos violetas).

Para la segunda siembra de otoño de 2024, los dos primeros componentes del PCA explicaron el 70,9% de la variabilidad total (Figura 45). El análisis separó los datos de acuerdo con el

tratamiento materno, agrupando del lado derecho a las plantas que sobrevivieron más y tardaron más en florecer, mientras que en la región superior se encuentran los ecotipos que mostraron mayor emergencia. El cuadrante superior derecho concentró tratamientos con alto desarrollo vegetativo y alta emergencia. En el cuadrante superior izquierdo se agruparon ecotipos con alta emergencia, indicando una estrategia de reclutamiento. En el cuadrante inferior izquierdo, el ecotipo Ler-0 se asoció con alta temperatura acumulada a floración, mientras que en el cuadrante inferior derecho el ecotipo Cen-0 se asoció con una alta supervivencia y floración tardía. Estos patrones evidencian la influencia combinada de los tratamientos maternos sobre la expresión fenotípica de los ecotipos en condiciones novedosas.

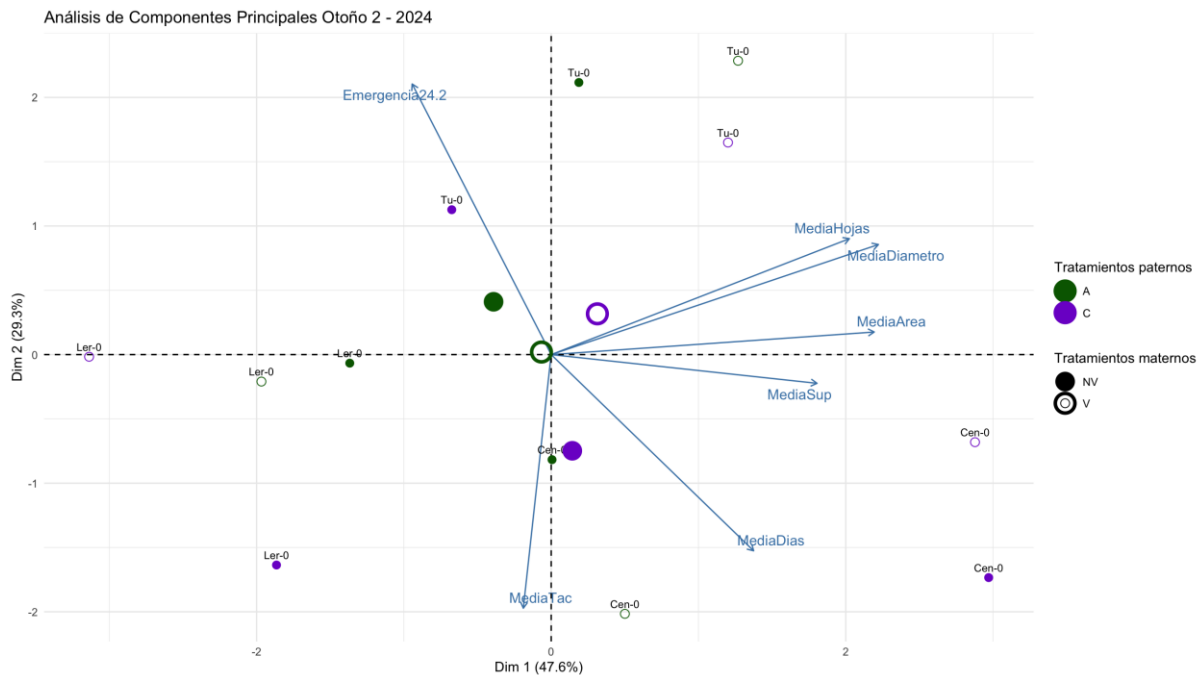


Figura 45. Análisis de Componentes Principales (PCA) de la primera siembra de otoño del año 2024. Se incluyen siete variables: emergencia a campo (Emergencia24.2), temperatura acumulada promedio (MediaTac), número de hojas a floración (MediaHojas), número de días a floración (MediaDias), porcentaje de supervivencia (MediaSup), área foliar (MediaArea) y diámetro foliar (MediaDiametro). Los puntos representan distintos ecotipos bajo cuatro tratamientos maternos: V-A (círculos vacíos verdes), NV-A (círculos llenos verdes); V-C (círculos vacíos violetas); NV-C (círculos llenos violetas).

Discusión

Influencia del ambiente materno sobre el desarrollo vegetativo

Los resultados obtenidos que se muestran en este capítulo indican que el ambiente térmico experimentado por la generación materna tiene efectos significativos sobre el crecimiento vegetativo de la progenie, evidenciado en variables como el área foliar y el diámetro de la roseta. Ecotipos como Cen-0, Cvi-0 y Ra-0 respondieron positivamente al tratamiento de no vernalización mostrando un mayor área y diámetro foliar mientras que Ler-0, Ömö2-1 y Ws-0 lo hicieron cuando el tratamiento materno fue vernalización (Figuras 32, 34, 37 y 38). Estas respuestas ecotipo-específicas sugieren una interacción entre la plasticidad fenotípica y el ambiente de origen donde el ambiente materno modula el desarrollo vegetativo de manera diferencial según el origen genético (D'Aguillo & Donohue, 2023; Larios et al., 2014; Zacchello et al., 2020).

La incorporación del tratamiento con Aza en 2024 reveló que la metilación también juega un rol en la expresión de los caracteres vegetativos. En Ler-0 por ejemplo, el tratamiento V-Aza promovió un mayor desarrollo foliar, mientras que en Tu-0 se observó el patrón opuesto (V-Aza tuvo el menor desarrollo foliar, Figuras 35, 39 y 40). Esto refuerza la idea de que mecanismos epigenéticos pueden mediar la respuesta al ambiente materno, afectando el crecimiento vegetativo de la progenie. Estos resultados coinciden con evidencia reportada previamente en la que en condiciones controladas, la progenie de madres sometidas a sequía desarrolló mayor área foliar y biomasa aérea comparada con la progenie de madres control, lo que indica un efecto materno adaptativo en caracteres vegetativos (Herman & Sultan, 2016). Sin embargo, el tratamiento con zebularina (químico que elimina metilación del ADN) eliminó el efecto adaptativo del estrés materno de las plantas de *Polygonum persicaria* (Herman & Sultan, 2016), contrario a lo que se observa en el caso de esta tesis.

Compromisos entre crecimiento y reproducción

Los resultados indicaron la existencia de compromisos funcionales entre el crecimiento vegetativo y la reproducción. En plantas que expresan diferentes ciclos de vida, es esperable que una mayor acumulación de biomasa vegetativa se correlacione con una mayor biomasa reproductiva (Hodgson et al., 2017). En esta tesis se observó que varios ecotipos desarrollaron una mayor área foliar y que esto no necesariamente se traduce en mayor rendimiento reproductivo, esto puede deberse a la limitación de recursos en macetas pequeñas (Paul-Victor & Turnbull, 2009). Por ejemplo, Ömö2-1 mostró mayor peso de semillas cuando el tratamiento fue V-V sin presentar mayor área foliar (Figura 34). Este ecotipo estaría expresando una estrategia conservativa de recursos bajo esta combinación de ambientes para producir una progenie con mayor aptitud y capacidad adaptativa (Bastias et al., 2024). En cambio, ecotipos como Cvi-0 y Tu-0 sí mostraron una relación positiva entre área foliar y tamaño de semillas en condiciones NV-NV (Figura 34). Estos patrones sugieren que la inversión en crecimiento vegetativo puede estar desacoplada de la inversión reproductiva, dependiendo del contexto ambiental y del ecotipo (Bastias et al., 2024). En especies con cuidado despreciable, como

Arabidopsis thaliana, la planta madre puede maximizar el fitness por unidad de inversión sin comprometer la calidad de cada descendiente (Ratikainen et al., 2018).

Variación en la estrategia reproductiva: cantidad vs calidad

La interacción entre el ambiente materno y el ecotipo también afectó la estrategia reproductiva, evidenciada en el peso y área de las semillas producidas (Figura 33). Algunos ecotipos priorizaron la cantidad de semillas (Cen-0, Sha y Wa-1 NV), mientras que otros favorecieron el tamaño (Cvi-0, Tu-0 y Ra-0 NV), estos resultados se pueden asociar a la adaptación a la temperatura. Esto se alinea con datos previos en bibliografía donde está reportado que las temperaturas altas redujeron el rendimiento de las semillas para los ecotipos Cvi-0 y Bur (Huang et al., 2014). Además, el peso de semillas está bajo control genético mientras que la cantidad depende de las condiciones de crecimiento que en el caso de esta tesis están estandarizadas por lo que es esperable que haya una respuesta a la temperatura materna.

La metilación también modificó esta relación: en Ler-0 y Tu-0, el tratamiento NV-Aza aumentó el peso total de semillas sin afectar su tamaño, lo que sugiere una modificación del *fitness* materno sin impacto directo sobre el *fitness* de la progenie: se priorizó la cantidad de semillas en detrimento de la calidad (Figura 36). Por otra parte, Cen-0 V-C produjo más semillas pero del mismo tamaño, indicando que V-Aza reduce el *fitness* materno, este conflicto madre/progenie muestra que el fenotipo óptimo (V-C) está determinado por la metilación del ADN, esta evidencia concuerda con lo propuesto por Auge, Leverett, et al., (2017) donde la precisión del momento en el que ocurre la señal ambiental materna determina si la plasticidad transgeneracional es adaptativa o no.

Persistencia de los efectos maternos en generaciones sucesivas

Los efectos del ambiente materno se extendieron más allá de la primera generación, afectando caracteres como el área foliar y el tamaño de las semillas en las segunda y tercera generaciones. Ecotipos como Ra-0 y Cen-0 mostraron mayor área foliar en condiciones NV-NV mientras que Cvi-0 y Tu-0 produjeron semillas más grandes bajo la misma combinación de tratamientos (Figura 34). Estos resultados refuerzan la idea de que los efectos transgeneracionales se expresan cuando el ambiente se sincroniza (está correlacionado entre generaciones) y pueden influir en componentes clave del *fitness* como el crecimiento y la reproducción y deben ser considerados en estudios evolutivos (G. Auge et al., 2023; G. A. Auge, Leverett, et al., 2017; Authier et al., 2023; Groot et al., 2017; Lukić et al., 2023). Sin embargo, estas respuestas muestran un fuerte componente genético, sugiriendo que la plasticidad transgeneracional está limitada por la variación genética (Bastias et al. 2024).

Estrategias funcionales en condiciones de campo

Los análisis multivariados realizados con los resultados de campo mostraron una diferenciación entre tratamientos maternos (Figuras 41 a 45). El tratamiento de no vernalización se asoció con una estrategia más conservativa, caracterizada por una mayor biomasa aérea y floración tardía, mientras que el tratamiento de vernalización promovió una estrategia adquisitiva (propia de esta especie) con emergencia rápida y reproducción temprana. La variabilidad entre ecotipos

sugiere la existencia de estrategias divergentes en el uso de recursos frente a ambientes contrastantes (Bastias et al. 2024). Además, se observaron compromisos entre emergencia, supervivencia y crecimiento vegetativo, lo que indica que las plantas deben balancear su inversión en establecimiento y desarrollo según las condiciones ambientales (Ellis et al., 2021). La influencia del ambiente materno sobre estos caracteres funcionales, junto con la interacción epigenética, destacan la importancia de considerar la historia ambiental en la evaluación del *fitness*.

Las variables de emergencia y supervivencia se proyectaron en direcciones opuestas a las de crecimiento vegetativo, lo que sugiere *trade-offs* funcionales entre establecimiento y desarrollo (Figuras 43 y 45). Además, los tratamientos maternos (Aza y Control) en 2024 mostraron efectos diferenciados sobre la expresión fenotípica, reforzando la influencia del ambiente materno sobre los caracteres funcionales y una interacción con la homeostasis de metilación (Schmid et al., 2018). La decisión sobre el tamaño de la descendencia se desacopla del compromiso entre reproducción actual y futura cuando los recursos pueden dividirse en múltiples descendientes (cuidado despreciable), permitiendo a la generación madre maximizar el *fitness* por unidad de inversión independientemente de la inversión total (Ratikainen et al., 2018). Para el peso y área de semillas producidas en condiciones controladas para el tercer año se encontró que la metilación modificó el *fitness* materno al aumentar el peso de semillas el tratamiento NV-Aza, pero sin modificar el tamaño (*fitness* de la progenie).

Conclusiones

Los resultados presentados en este capítulo evidencian que el ambiente materno, en interacción con la variación genética y epigenética, modula el desarrollo vegetativo y el fitness de la progenie. Las respuestas observadas específicas del ecotipo debidas a los tratamientos de vernalización y demetilación indican que la plasticidad transgeneracional está condicionada por el ambiente de origen y por mecanismos epigenéticos que afectan el crecimiento y la reproducción de la progenie. Además, los análisis multivariados mostraron estrategias diversas en el uso de recursos desde respuestas más adquisitivas como la floración rápida hasta más conservativas con mayor inversión vegetativa. Esta evidencia destaca la importancia de considerar la historia ambiental y epigenética en la evaluación del fitness y la capacidad adaptativa de las poblaciones.

Discusión General

Comparación entre condiciones controladas vs campo

La temperatura materna afectó la respuesta de germinación y emergencia de la progenie. En condiciones controladas, la interacción significativa entre el ambiente materno, el ecotipo y el tiempo de postmaduración indicó que la germinación de la descendencia depende del ambiente anterior, del acervo génico y del ambiente de la semilla. Además, la germinación aumentó a medida que transcurrió el tiempo de postmaduración y las diferencias debidas al tratamiento materno fueron disminuyendo, estos resultados son consistentes con lo esperado donde tras determinado tiempo de postmaduración la germinación aumenta (disminuyendo la dormición) y es menos dependiente del ambiente anterior (G. A. Auge, Blair, et al., 2017; Burghardt et al., 2016). En condiciones naturales también se encontró una interacción significativa entre el ambiente materno y el ecotipo para la respuesta de emergencia de la progenie para los tres años de ensayos de campo. La respuesta de los ecotipos al ambiente heterogéneo tuvo variabilidad anual, esto significa que pequeñas diferencias en el microambiente de la semilla pueden cambiar la respuesta (Edwards et al., 2016; Leverett et al., 2016) dado que pueden modular la expresión de la dormición y los efectos maternos (Postma & Ågren, 2022; Sajeev et al., 2024) afectando el momento de la germinación que es el que define la trayectoria de vida de esa planta como organismo sésil. Así la decisión de germinar o no puede modificar la fuerza, dirección y modo de la selección natural sobre caracteres postgerminativos como la tolerancia al calor o al frío y la tolerancia a la sequía (D'Aguillo & Donohue, 2023). Al afectar la homeostasis de metilación del ADN de la planta madre junto con un tratamiento de temperatura se encontró que la respuesta de germinación se vio afectada por la interacción entre el ecotipo y los tratamientos maternos. Además, también se encontró una interacción significativa para la emergencia en el campo. Estos resultados sugieren que la metilación del ADN está involucrada en el pasaje de información ambiental materno hacia la descendencia (Lukić et al., 2023; Suter & Widmer, 2013a).

Los resultados obtenidos en el laboratorio indican que los efectos maternos son relevantes en condiciones controladas donde la presión de selección del ambiente es baja, dado el ambiente ideal que representa la temperatura controlada, una calidad de luz adecuada y nutrientes suficientes para el desarrollo de todo el ciclo de vida y la producción de la generación siguiente. En este contexto, los efectos maternos y transgeneracionales se expresan sin limitaciones (G. Auge et al., 2023; He et al., 2014). En cambio, en condiciones naturales, el ambiente heterogéneo del campo muestra una presión de selección tal que los efectos maternos se atenúan, esto es debido a que la plasticidad intrageneracional puede enmascarar los efectos del ambiente materno sobre los caracteres de la descendencia (G. A. Auge, Leverett, et al., 2017; Authier et al., 2023). A pesar de esto, se observaron efectos maternos en las fechas de siembra de otoño y primavera en todos los ensayos realizados.

Expresión de los efectos a través de las generaciones en condiciones naturales

Los resultados obtenidos a lo largo de esta tesis refuerzan la idea de que los efectos maternos no sólo existen en condiciones controladas, sino que también se expresan de forma significativa en ambientes naturales, incluso en condiciones novedosas y heterogéneas como las del campo

en la región metropolitana de Buenos Aires (Colicchio & Herman, 2020; Lampei et al., 2017). Esta investigación es relevante, ya que muchas inferencias sobre plasticidad y herencia ambiental se basan exclusivamente en estudios de laboratorio (G. Auge et al., 2023; Leventhal et al., 2025). La expresión variable de estos efectos entre ecotipos sugiere que la historia evolutiva y la adaptación local modulan la magnitud y dirección de las respuestas maternas (G. Auge et al., 2023; Colicchio & Herman, 2020; Groot et al., 2017). Además, la inclusión de tratamientos epigenéticos (como la 5-Azacitidina) apunta a un posible componente epigenético en esta transmisión intergeneracional, lo que abre nuevas perspectivas para el estudio de la plasticidad heredable y su potencial evolutivo (Morgan & Donohue, 2022b, 2022a). En conjunto, estos resultados sugieren que los efectos maternos podrían representar una vía rápida de adaptación al cambio ambiental, especialmente en especies de ciclo de vida corto como *Arabidopsis thaliana* (D'Aguillo & Donohue, 2023; Gray & Brady, 2016; Whittle et al., 2009). Para un carácter sujeto a selección por fecundidad (como el tiempo de reproducción), la herencia y los efectos maternos se ven afectados: la correlación fenotipo-ambiente se desarrolla lentamente debido a que la tasa de mortalidad de la generación madre es idéntica para todos los individuos (es decir que no hay selección por supervivencia), la información sobre el ambiente solo se acumula en la descendencia y la herencia epigenética es menor porque se favorece el componente genético (Kuijper & Johnstone, 2021). Según la teoría (Kuijper & Johnstone, 2021), la selección por fecundidad es menos propicia para favorecer efectos maternos ya que el fenotipo materno no es necesariamente informativo sobre el ambiente. Sin embargo, si el tiempo a floración está acoplado con la supervivencia de la progenie, como se observó en algunos ecotipos provenientes de madres vernalizadas que mostraron supervivencia máxima a floración, entonces este carácter podría estar bajo presión de selección por viabilidad donde los individuos adaptados experimentan una mayor supervivencia lo que justificaría la presencia de efectos maternos adaptativos. Esta estrategia de *bet-hedging* (amortiguamiento) ocurre cuando la descendencia favorece la producción de mezclas de fenotipos más extremas (mayor en el fenotipo adaptado localmente) en cada ambiente en comparación con las madres. Por el contrario, la madre busca asegurar la supervivencia de su progenie en caso de que el ambiente cambie, favoreciendo la producción de una fracción de individuos inadaptados localmente. Esto es probable cuando los fenotipos alternativos imponen un costo similar (Kuijper & Johnstone, s. f.). Para la supervivencia en el campo, aunque no todos los análisis estadísticos arrojaron resultados significativos, los patrones observados son consistentes y ecológicamente relevantes. La falta de significancia en algunos casos puede atribuirse al bajo número de réplicas o a la alta variabilidad ambiental en campo. No obstante, los resultados apuntan a que los efectos maternos, tanto la temperatura como la Aza, pueden actuar como mecanismos adaptativos que permiten a las plantas ajustar su ciclo de vida frente a condiciones cambiantes.

El tiempo a floración también puede interpretarse como una decisión de inversión reproductiva, vinculada al compromiso entre el tamaño y el número de descendientes (Ratikainen et al., 2018), el modelo que proponen sobre asignación diferencial enuncia que la generación materna ajusta su inversión en función de la calidad del ambiente. En este estudio, se observó para Ra-0 y Ws-0 una floración tardía asociada a una mayor supervivencia lo que podría indicar una asignación diferencial positiva en el tamaño o el número de los descendientes. Si las madres

adelantan la floración para maximizar la cantidad de semillas en ambientes favorables, esto va en línea con una estrategia de fecundidad, si la floración tardía permite una mayor inversión por semilla, entonces el entorno estaría afectando los costos maternos y la eficiencia de la progenie (Kuijper & Johnstone, 2021). Además, el patrón observado donde no siempre la progenie muestra una ventaja en términos de supervivencia o tiempo a floración y en algunos ecotipos la progenie de madres vernalizadas floreció más tarde o tuvo menor supervivencia podría reflejar un conflicto madre-progenie (G. A. Auge, Leverett, et al., 2017; Kuijper & Johnstone, s. f.), donde la madre restringe la información ambiental transmitida para promover una estrategia de *bet-hedging*, asegurando que al menos algunos descendientes sobrevivan ante cambios ambientales impredecibles.

Cambios en la homeostasis de metilación del ADN pueden cambiar la percepción y/o la respuesta de las semillas

Las bajas temperaturas experimentadas por plantas de *Arabidopsis* luego de floración reprimen la germinación a través del silenciamiento del gen *ALN* inducido por la metilación del ADN (Iwasaki et al. 2019). El mecanismo RdDM, más específicamente la vía no canónica mediada por RDR6, dirige la metilación de un transposón que se encuentra río arriba del promotor de este gen en respuesta al frío, de esta manera reprimiendo epigenéticamente su expresión. En esta tesis, los resultados obtenidos durante el tercer año de experimentos demuestran que la modificación de la homeostasis de metilación del ADN mediante el tratamiento con Aza puede alterar significativamente la percepción y respuesta de las semillas al ambiente materno antes de floración. Aún más, la triple interacción significativa entre vernalización, Aza y ecotipo observada tanto en el laboratorio como en el campo indica que los efectos maternos no solo dependen del ambiente si no también del estado epigenético del genoma. Si bien no se realizaron experimentos específicos para determinar la contribución del mecanismo RdDM en nuestras condiciones, existen otros genes candidatos cuyo rol podría ser clave en estas respuestas. En este contexto, el gen *FLC*, conocido por su regulación epigenética mediante la metilación y remodelación de la cromatina (G. Auge et al., 2023; G. A. Auge, Blair, et al., 2017; Penfield & Springthorpe, 2012), emerge como un candidato clave en la mediación de estos efectos. La demetilación inducida por Aza podría interferir con el silenciamiento epigenético de *FLC*, alterando su expresión y, por lo tanto, la dormición y germinación de la progenie: al eliminar el silenciamiento de *FLC* por el efecto de Aza se promueve la germinación en la siguiente generación. Así, las semillas tratadas con Aza germinan más y la vernalización de la planta madre también aumenta la germinación de la progenie, por lo que las semillas V-Aza deberían ser las que más germinan.

La literatura reciente refuerza esta interpretación, mostrando que la respuesta fenotípica a la metilación del ADN es altamente ecotipo-específica (Morgan & Donohue, 2022b, 2022a). Ecotipos como Cvi-0 con alta dormición, dependen fuertemente de mecanismos epigenéticos para regular la germinación en respuesta a condiciones de luz o sombra en la generación madre, mientras que Col-0 o Cvi-1 muestran respuestas más flexibles. La demetilación materna puede revertir, eliminar o introducir efectos maternos sobre la germinación, dependiendo del ecotipo, lo que sugiere que la metilación funcional del ADN puede actuar como un modulador de la plasticidad fenotípica (Iwasaki et al., 2022; Lukić et al., 2023).

En el laboratorio, los ecotipos Cen-0, Ler-0 y Tu-0 que presentan distintas combinaciones funcionales de los alelos de *FRI* y *FLC*, mostraron respuestas diferenciadas frente al tratamiento con Aza. En el campo, estas diferencias se mantuvieron, especialmente en la segunda siembra de otoño donde se observó una interacción significativa entre los tres factores (los tratamientos maternos de temperatura y Aza y el ecotipo). Es destacable el comportamiento de Cen-0, que mostró patrones opuestos de emergencia según la combinación de tratamientos, lo que sugiere que la metilación del ADN puede modular la sensibilidad de las semillas a señales ambientales y maternas dado que este ecotipo presenta alelos funcionales para ambos genes. En Ler-0, la emergencia fue mayor en condiciones NV-Control, este ecotipo presenta alelos no funcionales de estos genes. Por otro lado, en Tu-0 se observó una mayor emergencia cuando el tratamiento materno fue NV-Aza, este ecotipo tiene *FRI* funcional y *FLC* no funcional.

La metilación del ADN no solo regula caracteres individuales como la germinación, sino también su integración fenotípica (G. A. Auge, Blair, et al., 2017; Chiang et al., 2009). La demetilación puede desacoplar caracteres correlacionados, introducir *trade-offs* y alterar la selección natural sobre ciertos caracteres, lo que sugiere que la epigenética puede influir en la trayectoria evolutiva de las poblaciones (G. Auge et al., 2023; G. A. Auge, Leverett, et al., 2017). En conjunto, estos resultados refuerzan la idea de que la plasticidad en la germinación en *Arabidopsis thaliana* está regulada por una interacción compleja entre genética, epigenética y ambiente, y que la metilación del ADN representa un mecanismo clave en la modulación de respuestas adaptativas transgeneracionales (Colicchio & Herman, 2020; Lukić et al., 2023). Además, nuestros resultados se suman a la información preexistente que muestra que los efectos maternos pueden superar la influencia del ambiente postdispersión, ampliando las condiciones de germinación, incluso cuando las semillas pierden y recuperan la dormición. Esto sugiere que la memoria ambiental heredada puede ser una estrategia adaptativa en contextos donde las condiciones ambientales son estacionales o predecibles (Authier et al., 2023).

Cambios en el ambiente materno y consecuencias sobre el fitness

Los modelos teóricos que estudian la contribución del ambiente materno sobre las respuestas de la progenie a menudo muestran un efecto ambiental mayor en la variación de la fecundidad (número de crías) que en el tamaño de la descendencia (Ratikainen et al., 2018). El balance entre la cantidad y la calidad de la producción de descendientes está determinado por las condiciones ambientales de la planta madre (G. Auge et al., 2023; Ratikainen et al., 2018). En ambientes favorables hay una mayor inversión en cantidad respecto a la calidad debido al exceso de recursos disponibles que cubren los requerimientos nutricionales de las semillas (se favorece el *fitness* de la madre). En ambientes estresantes se favorece la calidad por sobre la cantidad, la planta madre favorece el *fitness* de la progenie y de esta manera garantiza su supervivencia. La correcta percepción de las condiciones ambientales es de vital importancia para determinar el *fitness* de los individuos, ya sea para el correcto ajuste de las transiciones del desarrollo a los diferentes períodos estacionales garantizando su supervivencia, como para la producción de progenie con capacidad de desarrollarse en el ambiente en el que se encuentra favorecido el éxito reproductivo (Kuijper & Johnstone, s. f.)

En esta tesis se observó que el tratamiento materno afecta las estrategias funcionales de las plantas de *Arabidopsis thaliana* en el campo (multivariados), algunos ecotipos mostraron estrategias más adquisitivas con una floración rápida y otras estrategias más conservativas con un gran desarrollo de la biomasa aérea y floración tardía. Estos resultados corresponden con investigaciones clave sobre el estudio de estas estrategias ecológicas funcionales a nivel intraespecífico: la plasticidad de las especies generalistas en respuesta a filtros ambientales contrastantes (Gorné et al., 2022; Maracahipes et al., 2018). La variabilidad en la respuesta entre ecotipos sugiere la existencia de estrategias divergentes en el uso de recursos frente a ambientes contrastantes, donde algunos ecotipos priorizan cantidad de descendencia y otros la calidad de las semillas. El hecho de que algunos caracteres sean más sensibles a los tratamientos maternos que otros (por ejemplo, el área de semillas frente al diámetro foliar) podría reflejar diferencias en los mecanismos fisiológicos o epigenéticos que los regulan. Además, los resultados muestran que los efectos maternos pueden extenderse a generaciones subsiguientes, influenciando componentes del *fitness* como la floración o la producción de semillas. Esto refuerza la idea de que los efectos transgeneracionales deben ser considerados en estudios ecológicos y evolutivos, especialmente al analizar la capacidad adaptativa de poblaciones naturales frente a escenarios de cambio ambiental.

Conclusión general

Los resultados obtenidos a lo largo de esta tesis demuestran que los efectos maternos y transgeneracionales influyen significativamente en distintos estadios del ciclo de vida de *Arabidopsis thaliana*, afectando caracteres como la germinación, la emergencia, la floración, la supervivencia y caracteres relacionados al *fitness*. Estos efectos son persistentes en condiciones controladas y pueden extenderse a generaciones sucesivas, aunque en condiciones naturales su expresión se ve modulada por el ambiente inmediato. La variabilidad específica del ecotipo observada sugiere que la historia evolutiva y la adaptación local condicionan la magnitud y dirección de las respuestas al ambiente materno. Además, se evidenció que la homeostasis de metilación del ADN es clave en la transmisión de información ambiental entre generaciones, y que su alteración puede modificar la percepción y respuesta de la progenie. En conjunto, esta tesis aporta evidencia empírica sobre cómo la interacción entre genética, epigenética y ambiente materno puede afectar la plasticidad fenotípica y representar una vía rápida de ajuste adaptativo frente a condiciones cambiantes, especialmente en especies de ciclo de vida corto como *Arabidopsis thaliana*.

Bibliografía

- Akiyama, R., & Ågren, J. (2014). Conflicting selection on the timing of germination in a natural population of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Evolutionary Biology*, 27(1), 193-199. <https://doi.org/10.1111/jeb.12293>
- Anjum, N. A., Ahmad, I., Pereira, M. E., Duarte, A. C., Umar, S., & Khan, N. A. (Eds.). (2012). *The Plant Family Brassicaceae: Contribution Towards Phytoremediation* (Vol. 21). Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-3913-0>
- Arana, M. V., & Picó, F. X. (2025). *Advancing ecological and evolutionary research in Arabidopsis: Extending insights into model and nonmodel plants*.
- Atwell, S., Huang, Y. S., Vilhjálmsson, B. J., Willems, G., Horton, M., Li, Y., Meng, D., Platt, A., Tarone, A. M., Hu, T. T., Jiang, R., Mulyati, N. W., Zhang, X., Amer, M. A., Baxter, I., Brachi, B., Chory, J., Dean, C., Debieu, M., ... Nordborg, M. (2010). Genome-wide association study of 107 phenotypes in *Arabidopsis thaliana* inbred lines. *Nature*, 465(7298), 627-631. <https://doi.org/10.1038/nature08800>
- Auge, G. A., Blair, L. K., Burghardt, L. T., Coughlan, J., Edwards, B., Leverett, L. D., & Donohue, K. (2015). Secondary dormancy dynamics depends on primary dormancy status in *Arabidopsis thaliana*. *Seed Science Research*, 25(2), 230-246. <https://doi.org/10.1017/S0960258514000440>
- Auge, G. A., Blair, L. K., Kareliya, A., & Donohue, K. (2018). The autonomous flowering-time pathway pleiotropically regulates seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *Annals of Botany*, 121(1), 183-191. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx132>
- Auge, G. A., Blair, L. K., Neville, H., & Donohue, K. (2017). Maternal vernalization and vernalization-pathway genes influence progeny seed germination. *New Phytologist*, 216(2), 388-400. <https://doi.org/10.1111/nph.14520>
- Auge, G. A., Leverett, L. D., Edwards, B. R., & Donohue, K. (2017). Adjusting phenotypes via within- and across-generational plasticity. *New Phytologist*, 216(2), 343-349. <https://doi.org/10.1111/nph.14495>
- Auge, G., Hankofer, V., Groth, M., Antoniou-Kourouniotti, R., Ratikainen, I., & Lampei, C. (2023). Plant environmental memory: Implications, mechanisms and opportunities for plant scientists and beyond. *AoB PLANTS*, 15(4), plad032. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plad032>
- Authier, A., Cerdán, P., & Auge, G. (2023). Non-stressful temperature changes affect transgenerational phenotypic plasticity across the life cycle of *Arabidopsis thaliana* plants. *Annals of Botany*, 132(7), 1259-1270. <https://doi.org/10.1093/aob/mcad171>
- Authier, A., Cerdán, P., & Auge, G. A. (2021). Role of the RNA-directed DNA Methylation pathway in the regulation of maternal effects in *Arabidopsis thaliana* seed germination. *Open Access*.
- Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (1972). Ecological life cycle and physiological ecology of seed germination of *Arabidopsis thaliana*. *Canadian Journal of Botany*, 50(2), 353-360. <https://doi.org/10.1139/b72-049>
- Bastias, C. C., Estarague, A., Vile, D., Gaignon, E., Lee, C.-R., Exposito-Alonso, M., Violle, C., & Vasseur, F. (2024). Ecological trade-offs drive phenotypic and genetic differentiation of *Arabidopsis thaliana* in Europe. *Nature Communications*, 15(1), 5185. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-49267-0>
- Bastow, R., Mylne, J. S., Lister, C., Lippman, Z., Martienssen, R. A., & Dean, C. (2004). Vernalization requires epigenetic silencing of FLC by histone methylation. *Nature*, 427(6970), 164-167. <https://doi.org/10.1038/nature02269>
- Bentsink, L., Jowett, J., Hanhart, C. J., & Koornneef, M. (2006). Cloning of *DOG1*, a quantitative trait locus controlling seed dormancy in *Arabidopsis*. *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences*, 103(45), 17042-17047.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0607877103>
- Blair, L., Auge, G., & Donohue, K. (2017). Effect of FLOWERING LOCUS C on seed germination depends on dormancy. *Functional Plant Biology*, 44(5), 493.
<https://doi.org/10.1071/FP16368>
- Bonduriansky, R. (2021). Plasticity across Generations. En D. W. Pfennig, *Phenotypic Plasticity & Evolution* (1.^a ed., pp. 327-348). CRC Press.
<https://doi.org/10.1201/9780429343001-17>
- Burghardt, L. T., Edwards, B. R., & Donohue, K. (2016). Multiple paths to similar germination behavior in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, 209(3), 1301-1312.
<https://doi.org/10.1111/nph.13685>
- Capovilla, G., Schmid, M., & Posé, D. (2015). Control of flowering by ambient temperature. *Journal of Experimental Botany*, 66(1), 59-69. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru416>
- Cayuela, H., Jacob, S., Schtickzelle, N., Verdonck, R., Philippe, H., Laporte, M., Huet, M., Bernatchez, L., & Legrand, D. (2019). *Transgenerational dispersal plasticity and its fitness consequences are under genetic control*. *Evolutionary Biology*.
<https://doi.org/10.1101/791210>
- Chen, M., MacGregor, D. R., Dave, A., Florance, H., Moore, K., Paszkiewicz, K., Smirnoff, N., Graham, I. A., & Penfield, S. (2014). Maternal temperature history activates Flowering Locus T in fruits to control progeny dormancy according to time of year. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(52), 18787-18792.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1412274111>
- Chen, M., & Penfield, S. (2018). Feedback regulation of COOLAIR expression controls seed dormancy and flowering time. *Science*, 360(6392), 1014-1017.
<https://doi.org/10.1126/science.aar7361>
- Chiang, G. C. K., Bartsch, M., Barua, D., Nakabayashi, K., Debieu, M., Kronholm, I., Koornneef, M., Soppe, W. J. J., Donohue, K., & De Meaux, J. (2011). *DOG1* expression is predicted by the seed-maturation environment and contributes to geographical variation in germination in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Ecology*, 20(16), 3336-3349. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05181.x>
- Chiang, G. C. K., Barua, D., Kramer, E. M., Amasino, R. M., & Donohue, K. (2009). Major flowering time gene, FLOWERING LOCUS C, regulates seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(28), 11661-11666. <https://doi.org/10.1073/pnas.0901367106>
- Colicchio, J. M., & Herman, J. (2020). Empirical patterns of environmental variation favor adaptive transgenerational plasticity. *Ecology and Evolution*, 10(3), 1648-1665.
<https://doi.org/10.1002/ece3.6022>
- D'Aguillo, M., & Donohue, K. (2023). Changes in phenology can alter patterns of natural selection: The joint evolution of germination time and postgermination traits. *New Phytologist*.
- Day, T., & Bonduriansky, R. (2011). A Unified Approach to the Evolutionary Consequences of Genetic and Nongenetic Inheritance. *The American Naturalist*, 178(2), E18-E36.
<https://doi.org/10.1086/660911>
- Des Marais, D. L. (2024). Timing is everything: How plants optimize reproduction in a variable environment. *Cell*, 187(14), 3504-3505.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.05.054>
- Dittmar, E. L., Oakley, C. G., Ågren, J., & Schemske, D. W. (2014). Flowering time QTL in natural populations of *Arabidopsis thaliana* and implications for their adaptive value. *Molecular Ecology*, 23(17), 4291-4303. <https://doi.org/10.1111/mec.12857>

- Donohue, K., Dorn, L., Griffith, C., Kim, E., Aguilera, A., Polisetty, C. R., & Schmitt, J. (2005). Niche Construction Through Germination Cueing: Life-History Responses to Timing of Germination in *Arabidopsis thaliana*. *Evolution*, *59*(4), 771-785. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2005.tb01752.x>
- Donohue, K., Rubio De Casas, R., Burghardt, L., Kovach, K., & Willis, C. G. (2010). Germination, Postgermination Adaptation, and Species Ecological Ranges. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *41*(1), 293-319. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-102209-144715>
- Easlon, H. M., & Bloom, A. J. (2014). Easy Leaf Area: Automated digital image analysis for rapid and accurate measurement of leaf area. *Applications in Plant Sciences*, *2*(7), 1400033. <https://doi.org/10.3732/apps.1400033>
- Edwards, B. R., Burghardt, L. T., Zapata-Garcia, M., & Donohue, K. (2016). Maternal temperature effects on dormancy influence germination responses to water availability in *Arabidopsis thaliana*. *Environmental and Experimental Botany*, *126*, 55-67. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2016.02.011>
- Ellis, T. J., Postma, F. M., Oakley, C. G., & Ågren, J. (2021). Life-history trade-offs and the genetic basis of fitness in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Ecology*, *30*(12), 2846-2858. <https://doi.org/10.1111/mec.15941>
- Footitt, S., Huang, Z., Clay, H. A., Mead, A., & Finch-Savage, W. E. (2013). Temperature, light and nitrate sensing coordinate *Arabidopsis* seed dormancy cycling, resulting in winter and summer annual phenotypes. *The Plant Journal*, *74*(6), 1003-1015. <https://doi.org/10.1111/tpj.12186>
- Fournier-Level, A., Taylor, M. A., Paril, J. F., Martínez-Berdeja, A., Stitzer, M. C., Cooper, M. D., Roe, J. L., Wilczek, A. M., & Schmitt, J. (2022). Adaptive significance of flowering time variation across natural seasonal environments in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, *234*(2), 719-734. <https://doi.org/10.1111/nph.17999>
- Fox, J., & Weisberg, S. (2019). *An R Companion to Applied Regression* (Third). Sage. <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>
- Galloway, L. F., & Etterson, J. R. (2007). Transgenerational Plasticity Is Adaptive in the Wild. *Science*, *318*(5853), 1134-1136. <https://doi.org/10.1126/science.1148766>
- Ghalambor, C. K., McKAY, J. K., Carroll, S. P., & Reznick, D. N. (2007). Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology*, *21*(3), 394-407. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01283.x>
- Gorné, L. D., Díaz, S., Minden, V., Onoda, Y., Kramer, K., Muir, C., Michaletz, S. T., Lavorel, S., Sharpe, J., Jansen, S., Slot, M., Chacon, E., & Boenisch, G. (2022). The acquisitive–conservative axis of leaf trait variation emerges even in homogeneous environments. *Annals of Botany*, *129*(6), 709-722. <https://doi.org/10.1093/aob/mcaa198>
- Gratani, L. (2014). Plant Phenotypic Plasticity in Response to Environmental Factors. *Advances in Botany, 2014*, 1-17. <https://doi.org/10.1155/2014/208747>
- Gray, S. B., & Brady, S. M. (2016). Plant developmental responses to climate change. *Developmental Biology*, *419*(1), 64-77. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.07.023>
- Griffin, P. T., Niederhuth, C. E., & Schmitz, R. J. (2016). A comparative analysis of 5-azacytidine- and zebularine-induced DNA demethylation. *G3, Volume 6*, 2773-2780. doi: 10.1534/g3.116.030262
- Groot, M. P., Kubisch, A., Ouborg, N. J., Pagel, J., Schmid, K. J., Vergeer, P., & Lampei, C. (2017). Transgenerational effects of mild heat in *Arabidopsis thaliana* show strong genotype specificity that is explained by climate at origin. *New Phytologist*, *215*(3), 1221-1234. <https://doi.org/10.1111/nph.14642>

- He, H., De Souza Vidigal, D., Snoek, L. B., Schnabel, S., Nijveen, H., Hilhorst, H., & Bentsink, L. (2014). Interaction between parental environment and genotype affects plant and seed performance in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, *65*(22), 6603-6615. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru378>
- Herman, J. J., & Sultan, S. E. (2011). Adaptive transgenerational plasticity in plants: case studies, mechanisms, and implications for natural populations. *Frontiers in Plant Science*, *2*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2011.00102>
- Herman, J. J., & Sultan, S. E. (2016). DNA methylation mediates genetic variation for adaptive transgenerational plasticity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *283*(1838), 20160988. <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.0988>
- Hodgson, J. G., Santini, B. A., Montserrat Marti, G., Royo Pla, F., Jones, G., Bogaard, A., Charles, M., Font, X., Ater, M., Taleb, A., Poschlod, P., Hmimsa, Y., Palmer, C., Wilson, P. J., Band, S. R., Styring, A., Diffey, C., Green, L., Nitsch, E., ... Warham, G. (2017). Trade-offs between seed and leaf size (seed–phytomer–leaf theory): Functional glue linking regenerative with life history strategies ... and taxonomy with ecology? *Annals of Botany*, *120*(5), 633-652. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx084>
- Huang, Z., Footitt, S., & Finch-Savage, W. E. (2014). The effect of temperature on reproduction in the summer and winter annual *Arabidopsis thaliana* ecotypes Bur and Cvi. *Annals of Botany*, *113*(6), 921-929. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu014>
- Huo, H., Wei, S., & Bradford, K. J. (2016). *DELAY OF GERMINATION1* (*DOG1*) regulates both seed dormancy and flowering time through microRNA pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *113*(15). <https://doi.org/10.1073/pnas.1600558113>
- Iwasaki, M., Hyvärinen, L., Piskurewicz, U., & Lopez-Molina, L. (2019). Non-canonical RNA-directed DNA methylation participates in maternal and environmental control of seed dormancy. *eLife*, *8*, e37434. <https://doi.org/10.7554/eLife.37434>
- Iwasaki, M., Penfield, S., & Lopez-Molina, L. (2022). Parental and Environmental Control of Seed Dormancy in *Arabidopsis thaliana*. *Annual Review of Plant Biology*, *73*(1), 355-378. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-102820-090750>
- Jullien, P. E., Kinoshita, T., Ohad, N., & Berger, F. (2006). Maintenance of DNA Methylation during the *Arabidopsis* Life Cycle Is Essential for Parental Imprinting. *The Plant Cell*, *18*(6), 1360-1372. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.041178>
- Junttila, O. (1996). Plant adaptation to temperature and photoperiod. *Agricultural and Food Science*, *5*(3), 251-260. <https://doi.org/10.23986/afsci.72744>
- Kosmidis, I., & Firth, D. (2021). Jeffreys-prior penalty, finiteness and shrinkage in binomial-response generalized linear models. *Biometrika*, *108*(1), 71-82. <https://doi.org/10.1093/biomet/asaa052>
- Kronholm, I. (2022). Evolution of anticipatory effects mediated by epigenetic changes. *Environmental Epigenetics*, *8*(1), dvac007. <https://doi.org/10.1093/eep/dvac007>
- Kronholm, I., Picó, F. X., Alonso-Blanco, C., Goudet, J., & Meaux, J. D. (2012). Genetic basis of adaptation in *Arabidopsis thaliana*: local adaptation at the seed dormancy QTL *DOG1*: local adaptation for seed dormancy QTL *DOG1*. *Evolution*, *66*(7), 2287-2302. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2012.01590.x>
- Kuijper, B., & Johnstone, R. A. (s. f.). Maternal Effects and Parent-Offspring Conflict. *R. A. Kuijper, B., & Johnstone, R. A. (2021). Evolution of epigenetic transmission when selection acts on fecundity versus viability. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *376*(1826), 20200128. <https://doi.org/10.1098/rstb.2020.0128>
- Lämke, J., & Bäurle, I. (2017). Epigenetic and chromatin-based mechanisms in environmental stress adaptation and stress memory in plants. *Genome Biology*, *18*(1), 124. <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1263-6>

- Lampe, C. (2019). Multiple simultaneous treatments change plant response from adaptive parental effects to within-generation plasticity, in *Arabidopsis thaliana*. *Oikos*, 128(3), 368-379. <https://doi.org/10.1111/oik.05627>
- Lampe, C., Metz, J., & Tielbörger, K. (2017). Clinal population divergence in an adaptive parental environmental effect that adjusts seed banking. *New Phytologist*, 214(3), 1230-1244. <https://doi.org/10.1111/nph.14436>
- Larios, E., Búrquez, A., Becerra, J. X., & Lawrence Venable, D. (2014). Natural selection on seed size through the life cycle of a desert annual plant. *Ecology*, 95(11), 3213-3220. <https://doi.org/10.1890/13-1965.1>
- Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). **FactoMineR**: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1). <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- Leventhal, L., Ruffley, M., & Exposito-Alonso, M. (2025). Planting genomes in the wild: *Arabidopsis* from genetics history to the ecology and evolutionary genomics era. *Annual Review of Plant Biology*, 76(1), 605-635. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-071123-095146>
- Leverett, L. D., Auge, G. A., Bali, A., & Donohue, K. (2016). Contrasting germination responses to vegetative canopies experienced in pre- vs. Post-dispersal environments. *Annals of Botany*, 118(6), 1175-1186. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw166>
- Linkies, A., Graeber, K., Knight, C., & Leubner-Metzger, G. (2010). The evolution of seeds. *New Phytologist*, 186(4), 817-831. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03249.x>
- Lorenzo, C. D., Sanchez-Lamas, M., Antonietti, M. S., & Cerdán, P. D. (2016). Emerging hubs in plant light and temperature signaling. *Photochemistry and Photobiology*, 92(1), 3-13. <https://doi.org/10.1111/php.12535>
- Lukić, N., Zhu, J., Schurr, F. M., & Walter, J. (2023). The role of maternal environment and dispersal ability in plants' transgenerational plasticity. *Oikos*, 2023(8), e09863. <https://doi.org/10.1111/oik.09863>
- MacGregor, D. R., Kendall, S. L., Florance, H., Fedi, F., Moore, K., Paszkiewicz, K., Smirnoff, N., & Penfield, S. (2015). Seed production temperature regulation of primary dormancy occurs through control of seed coat phenylpropanoid metabolism. *New Phytologist*, 205(2), 642-652. <https://doi.org/10.1111/nph.13090>
- Maple, R., Zhu, P., Hepworth, J., Wang, J.-W., & Dean, C. (2024). Flowering time: From physiology, through genetics to mechanism. *Plant Physiology*, 195(1), 190-212. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiad109>
- Maracahipes, L., Carlucci, M. B., Lenza, E., Marimon, B. S., Marimon, B. H., Guimarães, F. A. G., & Cianciaruso, M. V. (2018). How to live in contrasting habitats? Acquisitive and conservative strategies emerge at inter- and intraspecific levels in savanna and forest woody plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 34, 17-25. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2018.07.006>
- Mathieu, J., Warthmann, N., Küttner, F., & Schmid, M. (2007). Export of FT protein from phloem companion cells is sufficient for floral induction in *Arabidopsis*. *Current Biology*, 17(12), 1055-1060. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.05.009>
- Michaels, S. D., Bezerra, I. C., & Amasino, R. M. (2004). *FRIGIDA* -related genes are required for the winter-annual habit in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(9), 3281-3285. <https://doi.org/10.1073/pnas.0306778101>
- Mitchell-Olds, T., & Schmitt, J. (2006). Genetic mechanisms and evolutionary significance of natural variation in *Arabidopsis*. *Nature*, 441(7096), 947-952. <https://doi.org/10.1038/nature04878>
- Montesinos-Navarro, A., Picó, F. X., & Tonsor, S. J. (2012). Clinal variation in seed traits influencing life cycle timing in *Arabidopsis thaliana*: clinal variation in seed traits. *Evolution*, 66(11), 3417-3431. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2012.01689.x>

- Morgan, B. L., & Donohue, K. (2022a). Parental DNA methylation influences plasticity of early offspring traits, but offspring DNA methylation influences trait plasticity throughout life. *Ecology and Evolution*, *12*(8). <https://doi.org/10.1002/ece3.9224>
- Morgan, B. L., & Donohue, K. (2022b). Parental methylation mediates how progeny respond to environments of parents and of progeny themselves. *Annals of Botany*, *130*(6), 883-899. <https://doi.org/10.1093/aob/mcac125>
- Paul-Victor, C., & Turnbull, L. A. (2009). The Effect of Growth Conditions on the Seed Size/Number Trade-Off. *PLoS ONE*, *4*(9), e6917. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006917>
- Penfield, S., & Springthorpe, V. (2012). Understanding chilling responses in *Arabidopsis* seeds and their contribution to life history. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *367*(1586), 291-297. <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0186>
- Postma, F. M., & Ågren, J. (2022). Effects of primary seed dormancy on lifetime fitness of *Arabidopsis thaliana* in the field. *Annals of Botany*, *129*(7), 795-808. <https://doi.org/10.1093/aob/mcac010>
- R Core Team. (2024). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. [R]. R Foundation for Statistical Computing. <<https://www.R-project.org/>>.
- Ramos-Muñoz, M., Blanco-Sánchez, M., Pías, B., Ramírez-Valiente, J. A., Benavides, R., Escudero, A., & Matesanz, S. (2025). Interactive Effects of Warming and Competition Do Not Limit the Adaptive Plastic Response to Drought in Populations of a Mediterranean Plant. *Global Change Biology*, *31*(7), e70363. <https://doi.org/10.1111/gcb.70363>
- Ratikainen, I. I., Haaland, T. R., & Wright, J. (2018). Differential allocation of parental investment and the trade-off between size and number of offspring. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *285*(1884), 20181074. <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.1074>
- Sajeev, N., Koornneef, M., & Bentsink, L. (2024). A commitment for *life*: Decades of unraveling the molecular mechanisms behind seed dormancy and germination. *The Plant Cell*, *36*(5), 1358-1376. <https://doi.org/10.1093/plcell/koad328>
- Schmid, M. W., Heichinger, C., Coman Schmid, D., Guthörl, D., Gagliardini, V., Bruggmann, R., Aluri, S., Aquino, C., Schmid, B., Turnbull, L. A., & Grossniklaus, U. (2018). Contribution of epigenetic variation to adaptation in *Arabidopsis*. *Nature Communications*, *9*(1), 4446. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06932-5>
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, *9*(7), 671-675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Segrestin, J., Bernard-Verdier, M., Violle, C., Richarte, J., Navas, M., & Garnier, E. (2018). When is the best time to flower and disperse? A comparative analysis of plant reproductive phenology in the Mediterranean. *Functional Ecology*, *32*(7), 1770-1783. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13098>
- Sharma, N., Geuten, K., Giri, B. S., & Varma, A. (2020). The molecular mechanism of vernalization in *Arabidopsis* and cereals: Role of Flowering Locus C and its homologs. *Physiologia Plantarum*, *170*(3), 373-383. <https://doi.org/10.1111/ppl.13163>
- Shen, X., De Jonge, J., Forsberg, S. K. G., Pettersson, M. E., Sheng, Z., Hennig, L., & Carlborg, Ö. (2014). Natural CMT2 Variation Is Associated With Genome-Wide Methylation Changes and Temperature Seasonality. *PLoS Genetics*, *10*(12), e1004842. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004842>

- Soltis, P. S., & Soltis, D. E. (2004). The origin and diversification of angiosperms. *American Journal of Botany*, *91*(10), 1614-1626. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.10.1614>
- Sultan, S. E. (2000). Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science*, *5*(12), 537-542. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01797-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01797-0)
- Suter, L., & Widmer, A. (2013a). Environmental Heat and Salt Stress Induce Transgenerational Phenotypic Changes in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE*, *8*(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060364>
- Suter, L., & Widmer, A. (2013b). Phenotypic Effects of Salt and Heat Stress over Three Generations in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE*, *8*(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080819>
- Taylor, M. A., Cooper, M. D., Sellamuthu, R., Braun, P., Migneault, A., Browning, A., Perry, E., & Schmitt, J. (2017). Interacting effects of genetic variation for seed dormancy and flowering time on phenology, life history, and fitness of experimental *Arabidopsis thaliana* populations over multiple generations in the field. *New Phytologist*, *216*(1), 291-302. <https://doi.org/10.1111/nph.14712>
- Turck, F., Fornara, F., & Coupland, G. (2008). Regulation and Identity of Florigen: FLOWERING LOCUS T Moves Center Stage. *Annual Review of Plant Biology*, *59*(1), 573-594. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092755>
- Uller, T. (2008). Developmental plasticity and the evolution of parental effects. *Trends in Ecology & Evolution*, *23*(8), 432-438. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.04.005>
- Valencia-Díaz, S., & Montaña, C. (2005). Temporal variability in the maternal environment and its effect on seed size and seed quality in *Flourensia cernua* DC. (Asteraceae). *Journal of Arid Environments*, *63*(4), 686-695. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2005.03.024>
- Vasseur, F., Sartori, K., Baron, E., Fort, F., Kazakou, E., Segrestin, J., Garnier, E., Vile, D., & Violle, C. (2018). Climate as a driver of adaptive variations in ecological strategies in *Arabidopsis thaliana*. *Annals of Botany*. <https://doi.org/10.1093/aob/mcy165>
- Vidigal, D. S., Marques, A. C. S. S., Willems, L. A. J., Buijs, G., Méndez-Vigo, B., Hilhorst, H. W. M., Bentsink, L., Picó, F. X., & Alonso-Blanco, C. (2016). Altitudinal and climatic associations of seed dormancy and flowering traits evidence adaptation of annual life cycle timing in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell & Environment*, *39*(8), 1737-1748. <https://doi.org/10.1111/pce.12734>
- Wang, L., Wang, H. L., Zhang, K., & Tian, C. Y. (2015). Effects of maternal nutrient and water availability on seed production, size and germination of heterocarpic *Atriplex aucheri*. *Seed Sci. & Technol.*, *43*, 71-79. <https://doi.org/info:doi/10.15258/sst.2015.43.1.08>
- Whittaker, C., & Dean, C. (2017). The *FLC* Locus: A Platform for Discoveries in Epigenetics and Adaptation. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, *33*(1), 555-575. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100616-060546>
- Whittle, C. A., Otto, S. P., Johnston, M. O., & Krochko, J. E. (2009). Adaptive epigenetic memory of ancestral temperature regime in *Arabidopsis thaliana* This paper is one of a selection of papers published in a Special Issue from the National Research Council of Canada – Plant Biotechnology Institute. *Botany*, *87*(6), 650-657. <https://doi.org/10.1139/B09-030>
- Willis, C. G., Baskin, C. C., Baskin, J. M., Auld, J. R., Venable, D. L., Cavender-Bares, J., Donohue, K., Rubio de Casas, R., & The NESCent Germination Working Group. (2014). The evolution of seed dormancy: Environmental cues, evolutionary hubs, and diversification of the seed plants. *New Phytologist*, *203*(1), 300-309. <https://doi.org/10.1111/nph.12782>

- Wolf, J. B., & Wade, M. J. (2009). What are maternal effects (and what are they not)? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1520), 1107-1115. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0238>
- Wolfe, M. D., & Tonsor, S. J. (2014). Adaptation to spring heat and drought in northeastern Spanish *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, 201(1), 323-334. <https://doi.org/10.1111/nph.12485>
- Xie, G., Du, X., Hu, H., & Du, J. (2025). Molecular mechanisms underlying the establishment, maintenance, and removal of DNA methylation in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 76(1), 143-170. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-083123-054357>
- Xu, G., Tao, Z., & He, Y. (2022). Embryonic reactivation of *FLOWERING LOCUS C* by *ABSCISIC ACID-INSENSITIVE 3* establishes the vernalization requirement in each *Arabidopsis* generation. *The Plant Cell*, 34(6), 2205-2221. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac077>
- Zacchello, G., Vinyeta, M., & Ågren, J. (2020). Strong stabilizing selection on timing of germination in a Mediterranean population of *Arabidopsis thaliana*. *American Journal of Botany*, 107(11), 1518-1526. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1549>
- Zinn, K. E., Tunc-Ozdemir, M., & Harper, J. F. (2010). Temperature stress and plant sexual reproduction: Uncovering the weakest links. *Journal of Experimental Botany*, 61(7), 1959-1968. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq053>

Información suplementaria – Capítulo I

Tabla 1A. Efectos de la temperatura materna y el ecotipo en la proporción de germinación de la progenie para el año 2022. La tabla muestra los efectos de la temperatura materna (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo (modelo completo) para semillas frescas y postmaduradas tres, seis y doce meses. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, y familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, y la significancia asociada de acuerdo al p -valor. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	0 meses	3 meses	6 meses	12 meses
Tratamiento Materno (g.l. = 1)	2274.6***	5.7*	12.6***	71.7***
Ecotipo (g.l. = 9)	21758.3***	6324.0***	13941.3***	14490.3***
Trat. Mat. x Ecotipo (g.l. = 9)	2932.6***	641.9***	1049.7***	576.7***

Tabla 1B. Resultados por ecotipo de los efectos de la temperatura materna en la proporción de germinación de la progenie para el año 2022. La tabla muestra los efectos de la temperatura materna (tratamientos: V y NV) para semillas postmaduradas a cuatro tiempos: 0, 3, 6 y 12 meses. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$. Los grados de libertad son igual a uno en todos los casos.

Ecotipo	0 meses	3 meses	6 meses	12 meses
Wa-1	1013.2 ***	1.2668 ns	3.0874e-09 ns	55.788 ***
Ra-0	1.3358e-12 ns	0.12857 ns	54.472 ***	27.81 ***
Sha	605.84 ***	104.34 ***	169.43 ***	-
Ler-0	55.105 ***	27.81 ***	27.81 ***	6.8803 **
Oy-0	135.43 ***	348.21 ***	538.4 ***	105.17 ***
Cvi-0	24.595 ***	146.41 ***	56.318 ***	227.32 ***
Tu-0	188.41 ***	21.269 ***	2.8422e-13 ns	39.352 ***
Ws-0	3058.6 ***	81.395 ***	6.8803 ***	27.81 ***
Cen-0	43.171 ***	5.7431 *	43.301 ***	119.81 ***
Ömö2-1	82.725 ***	24.148 ***	165.7 ***	38.468 ***

Tabla 2A. Efectos de la temperatura materna y el ecotipo en la proporción de germinación de la progenie para el año 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura materna (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo (modelo completo) para semillas frescas y postmaduradas tres, seis y doce meses. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit y una familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, y la significancia asociada de acuerdo al p -valor. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	0 meses	3 meses	6 meses	12 meses
Tratamiento (g.l. = 1)	103.7***	246.0***	200.1***	199.0***
Ecotipo (g.l. = 9)	7176.3***	5753.7***	5733.2***	9053.0***
Tratamiento x Ecotipo (g.l. = 9)	419.7***	1256.3***	1953.4***	1038.8***

Tabla 2B. Resultados por ecotipo de los efectos de la temperatura materna en la proporción de germinación de la progenie para el año 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura materna (tratamientos: V y NV) para semillas postmaduradas a cuatro tiempos: 0, 3, 6 y 12 meses. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$. Los grados de libertad son igual a uno en todos los casos.

Ecotipo	0 meses	3 meses	6 meses	12 meses
Wa-1	38.619 ***	16.129 ***	2.4008 ns	49.346 ***
Ra-0	315.56 ***	131.64 ***	225.68 ***	27.81 ***
Sha	4.8317e-13 ns	84.9 ***	2.9528 ns	1.3642e-12 ns
Ler-0	0.71215 ns	254.68 ***	658.86 ***	308.12 ***
Oy-0	2.6155 ns	29.484 ***	1.1114 ns	8.5504 **
Cvi-0	3.143e-09 ns	3.5076 ns	29.165 ***	6.4236 *
Tu-0	1.6721 ns	71.044 ***	240.2 ***	34.305 ***
Ws-0	3.1292e-09 ns	27.999 ***	56.491 ***	55.788 ***
Cen-0	103.7 ***	245.99 ***	1.5406 ns	30.235 ***
Ömö2-1	3.1292e-09 ns	392.12 ***	935.1 ***	717.25 ***

Tabla 3A. Efectos de dos tratamientos y el ecotipo en la proporción de germinación de la progenie para el año 2024. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamiento 1: V y NV) y Aza (tratamiento 2: Control y 5-Aza) y su interacción con el ecotipo (modelo completo) para semillas frescas y postmaduradas 0, 3, 6 y 12 meses. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit y una familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, y la significancia asociada de acuerdo al p -valor. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	0 meses	3 meses	6 meses	12 meses
2024 – semillas frescas (tiempo de postmaduración = 0)				
Tratamiento 1 (g.l. = 1)	308.3***	248.0***	58.7***	49.3***
Tratamiento 2 (g.l. = 1)	163.6***	2.1ns	0.7ns	65.3***
Ecotipo (g.l. = 2)	8448.4***	14506.7***	6318.1***	8780.4***
Ecotipo x Trat. 1 (g.l. = 2)	2057.5***	162.2***	11.6**	92.7***
Ecotipo x Trat. 2 (g.l. = 2)	183.4***	27.5***	0.1ns	58.6***
Trat. 1 x Trat. 2 (g.l. = 1)	135.3***	50.7***	146.9***	20.4***
Trat. 1 x Trat. 2 x Ecotipo (g.l. = 2)	32.6***	52.7***	0.9ns	66.4***

Tabla 3B. Efectos de dos tratamientos en la proporción de germinación de la progenie para el año 2024. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamiento 1: V y NV) y Aza (tratamiento 2: Control y 5-Aza) a los 0 meses de postmaduración. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit y una familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

	Ecotipo	0 meses	3 meses	6 meses	12 meses
Trat.1 x Trat.2	Cen-0	135.35 ***	50.680 ***	146.866 ***	20.383 ***
	Ler-0	133.80 ***	0.000 ns	0.000 ns	0.000 ns
	Tu-0	86.9 ***	42.386 ***	7.244 **	49.115 ***
Tratamiento de vernalización	Cen-0	1038.6 ***	221.09 ***	1.3506 ns	194.02 ***
	Ler-0	867.96 ***	82.997 ***	26.937 ***	27.07 ***
	Tu-0	4672.7 ***	37.399 ***	55.902 ***	223.67 ***
Tratamiento de Aza	Cen-0	27.608 ***	33.09 ***	177.31 ***	48.01 ***
	Ler-0	174.29 ***	6.8194 **	28.565 ***	27.07 ***
	Tu-0	6.51 *	4.3583 *	18.544 ***	0.50378 ns

Tabla 4A. Efectos de la temperatura de dos tratamientos y el ecotipo en la proporción de germinación de la progenie para la tercera generación. La tabla muestra los efectos de la temperatura de dos generaciones (tratamiento G1: V y NV, tratamiento G2: V y NV) y su interacción con el ecotipo (modelo completo) para semillas frescas y postmaduradas 3, 6 y 12 meses. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit y una familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
G3 – semillas postmaduradas (tiempo de postmaduración = 0, 3, 6, 12 meses)				
Ecotipo	9492.2	9	< 2.2e-16	***
Tratamiento G1	14.8	1	0.0001202	***
Tratamiento G2	0.4	1	0.5117493	ns
Meses	686.8	3	< 2.2e-16	***
Ecotipo x Tratamiento G1	589.0	9	< 2.2e-16	***
Ecotipo x Tratamiento G2	2138.8	9	< 2.2e-16	***
Trat. G1 x Trat. G2	8.0	1	0.0045913	**
Ecotipo x Meses	15395.8	27	< 2.2e-16	***
Tratamiento G1 x Meses	192.1	3	< 2.2e-16	***
Tratamiento G2 x Meses	1880.0	3	< 2.2e-16	***
Ecotipo x Trat. G1 x Trat. G2	362.5	9	< 2.2e-16	***
Ecotipo x Trat. G1 x Meses	752.6	27	< 2.2e-16	***
Ecotipo x Trat. G2 x Meses	2011.3	27	< 2.2e-16	***
Trat. G1 x Trat. G2 x Meses	185.8	3	< 2.2e-16	***
Ecotipo x Trat. G1 x Trat. G2 x Meses	464.3	27	< 2.2e-16	***

Tabla 4B. Efectos de la temperatura de dos tratamientos por ecotipo en la proporción de germinación de la progenie para la tercera generación. La tabla muestra los efectos de la temperatura de dos generaciones (tratamiento G1: V y NV, tratamiento G2: V y NV) por ecotipo para semillas frescas y postmaduradas 3, 6 y 12 meses. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit y una familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
Wa-1	13.85	3	0.003121	**
Ra-0	0.0	3	1.0000	ns
Sha	63.9	3	8.732e-14	***
Ler-0	0.00	3	1.00000	ns
Oy-0	185.93	3	< 2.2e-16	***
Cvi-0	0.0	3	1	ns
Tu-0	0.00	3	1.000000	ns
Ws-0	0.0	3	1.000000	ns
Cen-0	185.75	3	< 2.2e-16	***
Ömö2-1	587.4	3	< 2.2e-16	***

Tabla 4C. Efectos de la temperatura de dos tratamientos por ecotipo en la proporción de germinación de la progenie para la tercera generación. La tabla muestra los efectos de la temperatura de dos generaciones (tratamiento G1: V y NV, tratamiento G2: V y NV) por ecotipo para semillas frescas y postmaduradas 3, 6 y 12 meses. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit y una familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	0 meses	3 meses	6 meses	12 meses
Wa-1	71.2 ***	24.88 ***	0.0 ns	0.0 ns
Ra-0	0.0 ns	186.85 ***	0.0 ns	0.0 ns
Sha	26.68 ***	121.55 ***	0.0 ns	0.0 ns
Ler-0	2.64 ns	0.0 ns	0.0 ns	0.0 ns
Oy-0	248.71 ***	522.8 ***	0.0 ns	0.0 ns
Cvi-0	0.0 ns	0.0 ns	0.0 ns	0.0 ns
Tu-0	127.24 ***	0.0 ns	0.0 ns	0.0 ns
Ws-0	64.46 ***	0.0 ns	0.0 ns	0.0 ns
Cen-0	8.03 **	42.4 ***	155.39 ***	30.51 ***
Ömö2-1	0.0 ns	188.4 ***	326.49 ***	294.6 ***

Tabla 5A. Efectos de la temperatura materna y el ecotipo en la proporción de emergencia de la progenie para el otoño del año 2022. La tabla muestra los efectos de la temperatura materna (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo (modelo completo) para semillas frescas recién emergidas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de Libertad	p-valor	significancia
2022 - Proporción de Emergencia Otoño				
Tratamiento Materno	33.84	1	5.998e-09	***
Ecotipo	1406.72	9	< 2.2e-16	***
Tratamiento x Ecotipo	1229.72	9	< 2.2e-16	***

Tabla 5B. Efectos del tratamiento de temperatura en la proporción de emergencia de otoño de 2022. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para la proporción de emergencia de los 10 ecotipos en estudio. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2022 – Proporción de emergencia, resultados por ecotipo				
Wa-1	137.88	1	< 2.2e-16	***
Ra-0	516.31	1	< 2.2e-16	***
Sha	19.287	1	1.124e-05	***
Ler-0	123.37	1	< 2.2e-16	***
Oy-0	35.306	1	2.818e-09	***
Cvi-0	102.77	1	< 2.2e-16	***
Tu-0	29.175	1	6.614e-08	***
Ws-0	247.91	1	< 2.2e-16	***
Cen-0	33.835	1	5.998e-09	***
Ömö2-1	227.79	1	< 2.2e-16	***

Tabla 6A. Efectos de la temperatura materna y el ecotipo en la proporción de emergencia de la progenie para la primera siembra de otoño del año 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura materna (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo (modelo completo) para semillas frescas recién emergidas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de Libertad	p-valor	Significancia
2023 – Proporción de emergencia - Otoño Primera Siembra				
Tratamiento Materno	46.13	1	1.105e-11	***
Ecotipo	482.23	9	< 2.2e-16	***
Tratamiento x Ecotipo	67.79	9	4.132e-11	***

Tabla 6B. Efectos del tratamiento de temperatura en la proporción de emergencia de la primera siembra de otoño de 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para la proporción de emergencia de los 10 ecotipos en estudio. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2023 – Proporción de emergencia, resultados por ecotipo, 1ra siembra otoño				
Wa-1	1.9583	1	0.1617	ns
Ra-0	0.2407	1	0.6237	ns
Sha	12.013	1	0.0005284	***
Ler-0	2.0196	1	0.1553	ns
Oy-0	3.6851	1	0.0549	ns
Cvi-0	1.0635	1	0.3024	ns
Tu-0	16.395	1	5.141e-05	***
Ws-0	1.9658	1	0.1609	ns
Cen-0	46.133	1	1.105e-11	***
Öm2-1	0.20561	1	0.6502	ns

Tabla 7A. Efectos de la temperatura materna y el ecotipo en la proporción de emergencia de la progenie para la segunda siembra de otoño del año 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura materna (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo (modelo completo) para semillas frescas recién emergidas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de Libertad	p-valor	Significancia
2023 – Proporción de emergencia - Otoño Segunda Siembra				
Tratamiento Materno	2.54	1	0.1107	ns
Ecotipo	420.69	9	< 2.2e-16	***
Tratamiento x Ecotipo	44.02	9	1.4e-06	***

Tabla 7B. Efectos del tratamiento de temperatura en la proporción de emergencia de la segunda siembra de otoño de 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para la proporción de emergencia de los 10 ecotipos en estudio. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2023 – Proporción de emergencia, resultados por ecotipo, 2da siembra otoño				
Wa-1	17.761	1	2.505e-05	***
Ra-0	1.3669	1	0.2423	ns
Sha	0.016724	1	0.8971	ns
Ler-0	2.421	1	0.1197	ns
Oy-0	11.629	1	0.0006493	***
Cvi-0	1.3905	1	0.2383	ns
Tu-0	4.3394	1	0.03724	*
Ws-0	5.7712	1	0.01629	*
Cen-0	2.5437	1	0.1107	ns
Ömö2-1	0.34402	1	0.5575	ns

Tabla 8A. Efectos de la temperatura materna y el ecotipo en la proporción de emergencia de la progenie para la primera siembra de primavera del año 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura materna (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo (modelo completo) para semillas frescas recién emergidas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de Libertad	p-valor	Significancia
2023 – Proporción de emergencia - Primavera Primera Siembra				
Tratamiento Materno	0.148	1	0.70080	ns
Ecotipo	117.267	9	< 2.2e-16	***
Tratamiento x Ecotipo	29.770	9	0.00048	***

Tabla 8B. Efectos del tratamiento de temperatura en la proporción de emergencia de la primera siembra de primavera de 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para la proporción de emergencia de los 10 ecotipos en estudio. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2023 – Proporción de emergencia, resultados por ecotipo, 1ra siembra primavera				
Wa-1	15.406	1	8.671e-05	***
Ra-0	0.34402	1	0.5575	ns
Sha	1.7284	1	0.1886	ns
Ler-0	5.9928	1	0.01436	*
Oy-0	0.46234	1	0.4965	ns
Cvi-0	0	1	1	ns
Tu-0	0.20233	1	0.6528	ns
Ws-0	7.2163	1	0.007224	**
Cen-0	0.14764	1	0.7008	ns
Ömö2-1	1.3905	1	0.2383	ns

Tabla 9A. Efectos de la temperatura materna y el ecotipo en la proporción de emergencia de la progenie para la segunda siembra de primavera del año 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura materna (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo (modelo completo) para semillas frescas recién emergidas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de Libertad	p-valor	Significancia
2023 – Proporción de emergencia - Primavera Segunda Siembra				
Tratamiento Materno	0.000	1	0.9999998	ns
Ecotipo	271.712	9	< 2.2e-16	***
Tratamiento x Ecotipo	32.058	9	0.0001946	***

Tabla 9B. Efectos del tratamiento de temperatura en la proporción de emergencia de la segunda siembra de primavera de 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para la proporción de emergencia de los 10 ecotipos en estudio. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2023 – Proporción de emergencia, resultados por ecotipo, 2da siembra primavera				
Wa-1	21.795	1	3.034e-06	***
Ra-0	0	1	1	ns
Sha	0.48067	1	0.4881	ns
Ler-0	0.57579	1	0.448	ns
Oy-0	3.7903	1	0.05155	ns
Cvi-0	0	1	1	ns
Tu-0	11.646	1	0.0006433	***
Ws-0	0	1	1	ns
Cen-0	0	1	1	ns
Ömö2-1	0	1	1	ns

Tabla 10A. Efectos de la temperatura de dos tratamientos y el ecotipo en la proporción de emergencia de la progenie para la primera siembra del año 2024. La tabla muestra los efectos de la temperatura de dos tratamientos (tratamiento 1: V y NV, tratamiento 2: Control y 5-Aza) y su interacción con el ecotipo (modelo completo) para la proporción de emergencia de la progenie. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit y una familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2024 – semillas frescas, proporción de emergencia, Primera Siembra				
Tratamiento 1 (V - NV)	0.000	1	1.0000000	ns
Tratamiento 2 (C – A)	19.553	1	9.783e-06	***
Ecotipo	283.928	2	2.2e-16	***
Ecotipo x Trat. 1	27.665	2	9.831e-07	***
Ecotipo x Trat. 2	105.039	2	2.2e-16	***
Trat. 1 x Trat. 2	13.142	1	0.0002888	***
Trat. 1 x Trat. 2 x Ecotipo	53.346	2	2.607e-12	***

Tabla 10B. Efectos del tratamiento de temperatura y Aza sobre la proporción de emergencia de Ler-0, Tu-0 y Cen-0 para la primera siembra del año 2024. La tabla muestra los efectos de la interacción entre la temperatura (tratamientos: V y NV) y la 5-Aza (tratamientos: Aza y Control) sobre la emergencia de las semillas durante la primera siembra de 2024. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada para un análisis por ecotipo. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2024 – Proporción de emergencia, resultados por ecotipo, Primera Siembra				
Ler-0	39.898	1	2.676e-10	***
Tu-0	1.050	1	0.3055	ns
Cen-0	13.142	1	0.0002888	***

Tabla 11A. Efectos de la temperatura de dos tratamientos y el ecotipo en la proporción de emergencia de la progenie para la segunda siembra del año 2024. La tabla muestra los efectos de la temperatura de dos tratamientos (tratamiento 1: V y NV, tratamiento 2: Control y 5-Aza) y su interacción con el ecotipo (modelo completo) para la proporción de emergencia de la progenie. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit y una familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2024 – semillas frescas, proporción de emergencia, Segunda Siembra				
Tratamiento 1 (V – NV)	212.43	1	2.2e-16	***
Tratamiento 2 (C – A)	622.19	1	2.2e-16	***
Ecotipo	649.92	2	2.2e-16	***
Ecotipo x Tratamiento 1	115.02	2	2.2e-16	***
Ecotipo x Tratamiento 2	461.99	2	2.2e-16	***
Trat. 1 x Trat. 2	459.63	1	2.2e-16	***
Trat. 1 x Trat. 2 x Ecotipo	509.78	2	2.2e-16	***

Tabla 11B. Efectos del tratamiento de temperatura y Aza sobre la proporción de emergencia de Ler-0, Tu-0 y Cen-0 para la segunda siembra del año 2024. La tabla muestra los efectos de la interacción entre la temperatura (tratamientos: V y NV) y la 5-Aza (tratamientos: Aza y Control) sobre la emergencia de las semillas durante la primera siembra de 2024. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución binomial. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada para un análisis por ecotipo. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2024 – Proporción de emergencia, resultados por ecotipo, Segunda Siembra				
Ler-0	53.032	1	3.282e-13	***
Tu-0	91.889	1	2.2e-16	***
Cen-0	459.63	1	2.2e-16	***

Información suplementaria – Capítulo II

Tabla 12A. Efectos de dos tratamientos y el ecotipo en la floración de la progenie G2. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos G1 y G2: V y NV) y su interacción con el ecotipo (modelo completo) para plantas de la segunda generación. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log y una familia de distribución Poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2023 – Tiempo a floración, segunda generación				
Tratamiento G1	21.13	1	4.287e-06	***
Tratamiento G2	211.28	1	< 2.2e-16	***
Ecotipo	2097.56	9	< 2.2e-16	***
Ecotipo x Trat. G1	11.95	9	0.2161	ns
Ecotipo x Trat. G2	246.85	9	< 2.2e-16	***
Trat. G1 x Trat. G2	2.00	1	0.1575	ns
Trat. G1 x Trat. G2 x Ecotipo	47.91	9	2.652e-07	***

Tabla 12B. Efectos de los tratamientos de temperatura (en la primera y segunda generación) en el número de días a floración. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para el número de días a floración de los 10 ecotipos en estudio. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución Poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2023 – Número de días a floración, resultados por Ecotipo, primera siembra otoño				
Wa-1	0.00085	1	0.9768	ns
Ra-0	1.0121	1	0.3144	ns
Sha	0.6795	1	0.409763	ns
Ler-0	8.101	1	0.004424	**
Oy-0	2.7184	1	0.09920	ns
Cvi-0	1.2339	1	0.2667	ns
Tu-0	0.2040	1	0.65149	ns
Ws-0	19.540	1	0.0006431	***
Cen-0	11.6468	1	0.001	***
Ömö2-1	4.775	1	0.02888	*

Tabla 13A. Efectos de la temperatura materna y el ecotipo en el número de días a floración de la progenie para el otoño del año 2023, primera siembra. La tabla muestra los efectos de la temperatura materna (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo (modelo completo) para plantas recién florecidas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de Libertad	p-valor	Significancia
2023 – Número de días a floración Otoño Primera Siembra				
Tratamiento Materno	1.917	1	0.166	ns
Ecotipo	264.886	9	< 2.2e-16	***
Tratamiento x Ecotipo	9.582	8	0.296	ns

Tabla 13B. Efectos del tratamiento de temperatura en el número de hojas a floración de la primera siembra de otoño de 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para el número de hojas a floración de los 10 ecotipos en estudio. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2023 – Número de días a floración, resultados por Ecotipo, primera siembra otoño				
Wa-1	0.015	1	0.904	ns
Ra-0	0.082	1	0.773	ns
Sha	0.52777	1	0.468	ns
Ler-0	0.52847	1	0.467	ns
Oy-0	0.56665	1	0.452	ns
Cvi-0	0.032645	1	0.857	ns
Tu-0	0.528	1	0.468	ns
Ws-0	9.285	1	0.002	**
Cen-0	0.096	1	0.7565	ns
Ömö2-1 ²				

² Para este ecotipo no sobrevivieron las plantas provenientes de madres no vernalizadas, impidiendo el análisis estadístico de la comparación.

Tabla 14A. Efectos de la temperatura materna y el ecotipo en el número de días a floración de la progenie para el otoño del año 2023, segunda siembra. La tabla muestra los efectos de la temperatura materna (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo (modelo completo) para plantas recién florecidas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de Libertad	p-valor	Significancia
2023 – Número de días a floración Otoño Segunda Siembra				
Tratamiento Materno	0.033	1	0.856	ns
Ecotipo	217.784	9	< 2.2e-16	***
Tratamiento x Ecotipo	11.43	8	0.179	ns

Tabla 14B. Efectos del tratamiento de temperatura en el número de días a floración de la segunda siembra de otoño de 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para el número de hojas a floración de los 10 ecotipos en estudio. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2023 – Número de días a floración, resultados por Ecotipo, segunda siembra otoño				
Wa-1	0.044	1	0.834	ns
Ra-0	1.106	1	0.293	ns
Sha	0.001	1	0.978	ns
Ler-0	1.514	1	0.219	ns
Oy-0	0.040	1	0.841	ns
Cvi-0	7.160	1	0.007	**
Tu-0	0.019	1	0.889	ns
Ws-0	1.433	1	0.0231	ns
Cen-0	0.141	1	0.707	ns
Ömö2-1 ³				

³ Para este ecotipo no sobrevivieron las plantas provenientes de madres vernalizadas, impidiendo el análisis estadístico de la comparación.

Tabla 15. Efectos de la temperatura de dos tratamientos y el ecotipo en el número de días a floración de la progenie para la primera siembra del año 2024. La tabla muestra los efectos de la temperatura de dos tratamientos (tratamiento 1: V y NV, tratamiento 2: Control y 5-Aza) y su interacción con el ecotipo (modelo completo) para la proporción de emergencia de la progenie. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log y una familia de distribución Poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2024 – número de días a floración, primera siembra				
Tratamiento 1	3.777	1	0.05195	ns
Tratamiento 2	1.407	1	0.23562	ns
Ecotipo	48.459	2	3.001e-11	***
Ecotipo x Tratamiento 1	5.305	2	0.07049	ns
Ecotipo x Tratamiento 2	6.645	2	0.03605	*
Trat. 1 x Trat. 2	0.350	1	0.55407	ns
Trat. 1 x Trat. 2 x Ecotipo	2.024	2	0.15480	ns

Tabla 16. Efectos de la temperatura de dos tratamientos y el ecotipo en el número de días a floración de la progenie para la segunda siembra del año 2024. La tabla muestra los efectos de la temperatura de dos tratamientos (tratamiento 1: V y NV, tratamiento 2: Control y 5-Aza) y su interacción con el ecotipo (modelo completo) para la proporción de emergencia de la progenie. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log y una familia de distribución Poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2024 – número de días a floración, segunda siembra				
Tratamiento 1	1.259	1	0.2618	ns
Tratamiento 2	0.682	1	0.4088	ns
Ecotipo	88.598	2	<2e-16	***
Ecotipo x Tratamiento 1	2.266	2	0.3220	ns
Ecotipo x Tratamiento 2	1.209	2	0.5463	ns
Trat. 1 x Trat. 2	2.659	1	0.1030	ns
Trat. 1 x Trat. 2 x Ecotipo	0.461	2	0.7943	ns

Tabla 17A. Efectos de la temperatura materna y el ecotipo en el número de hojas a floración de la progenie para el otoño del año 2023, primera siembra. La tabla muestra los efectos de la temperatura materna (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo (modelo full) para plantas recién florecidas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de Libertad	p-valor	Significancia
2023 – Número de hojas a floración Otoño Primera Siembra				
Tratamiento Materno	7.90	1	0.004941	**
Ecotipo	410.10	9	< 2.2e-16	***
Tratamiento x Ecotipo	21.26	8	0.006476	**

Tabla 18A. Efectos de la temperatura materna y el ecotipo en el número de hojas a floración de la progenie para el otoño del año 2023, segunda siembra. La tabla muestra los efectos de la temperatura materna (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo (modelo full) para plantas recién florecidas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de Libertad	p-valor	Significancia
2023 – Número de hojas a floración Otoño Segunda Siembra				
Tratamiento Materno	2.10	1	0.147421	ns
Ecotipo	444.77	9	< 2.2e-16	***
Tratamiento x Ecotipo	25.91	8	0.001088	**

Tabla 18B. Efectos del tratamiento de temperatura en el número de hojas a floración de la segunda siembra de otoño de 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para el número de hojas a floración de los 10 ecotipos en estudio. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit, familia de distribución poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2023 – Número de hojas a floración, resultados por Ecotipo, segunda siembra otoño				
Wa-1	0.68559	1	0.4077	ns
Ra-0	10.002	1	0.001564	**
Sha	0.38323	1	0.5359	ns
Ler-0	0.026098	1	0.8717	ns
Oy-0	11.645	1	0.0006439	***
Cvi-0	1.7236	1	0.1892	ns
Tu-0	0.6496	1	0.4203	ns
Ws-0	2.8729	1	0.09008	ns
Cen-0	0.021277	1	0.884	ns
Ömö2-1 ⁴				

⁴ Para este ecotipo no sobrevivió la progenie de madres vernalizadas impidiendo la comparación.

Laboratorio floración G1 – madres de semillas que fueron al campo en 2022

La figura S1 muestra los días desde germinación hasta floración de la primera generación de plantas crecidas en condiciones controladas durante el 2021. Estas plantas son las madres de las semillas que luego fueron sembradas en condiciones controladas y naturales y también son las plantas que fueron crecidas a distintas temperaturas (vernalización y no vernalización). El análisis estadístico de los días a floración mostró una interacción significativa entre el ecotipo y el tratamiento materno (Tabla 19A). Esto significa que al menos uno de los ecotipos presenta diferencias en el tiempo a floración dadas por el tratamiento de temperatura. En la mayoría de los casos las plantas tratadas durante todo el ciclo de vida a 23°C (NV, naranja) tardaron más en florecer que aquellas que recibieron el tratamiento de vernalización (salvo los ecotipos Ler-0 y Wa-1 para los cuales no se observaron diferencias, Tabla 19B). Por otra parte, los ecotipos muestran diferencias entre sí en el número de días a floración indicando que hay un efecto de la temperatura.

Figura S1. Número de días desde germinación hasta floración. Gráfico de barras donde las barras (eje y) indican cantidad de días desde germinación hasta floración. Los errores son \pm el error estándar. El eje x muestra los 10 ecotipos en estudio. Los colores de las barras indican el tratamiento de temperatura que recibieron las plantas (naranja: no vernalizadas, azul: vernalizadas).

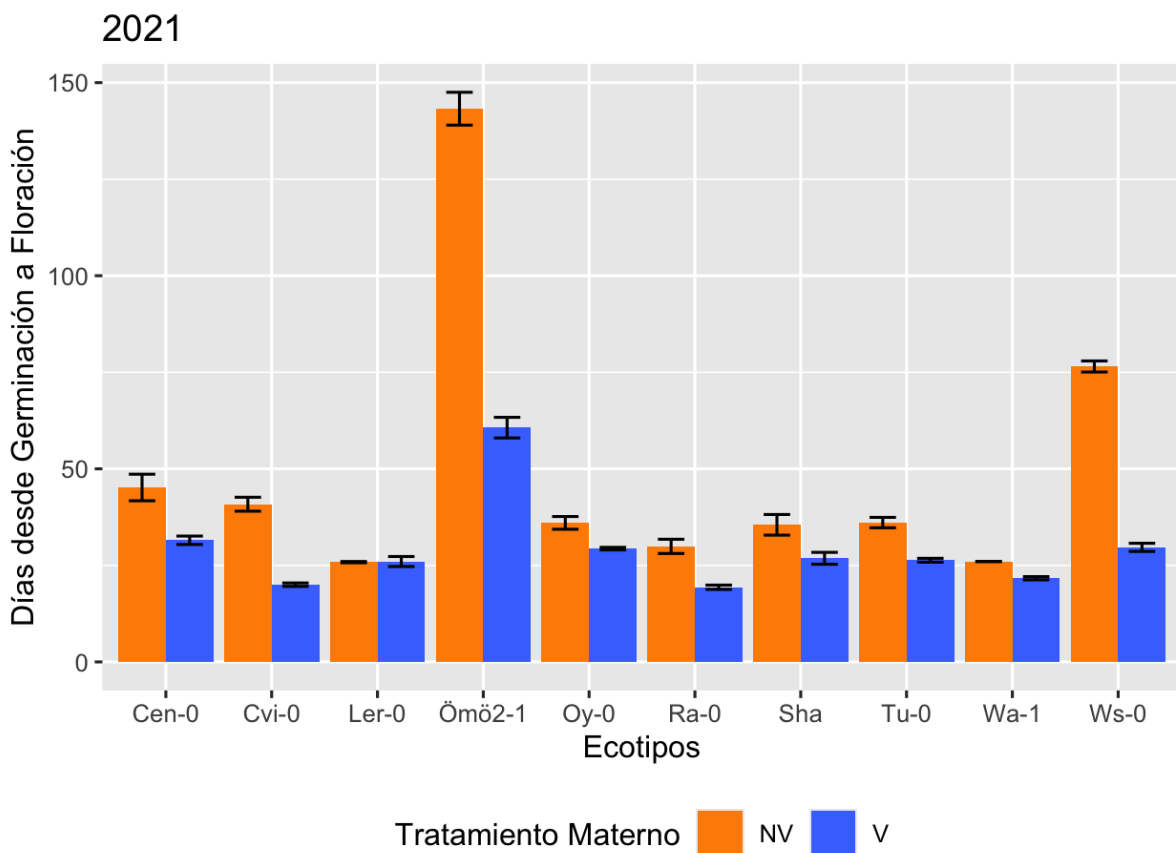


Tabla 19A. Efectos de la temperatura y el ecotipo sobre el tiempo a floración de la primera generación de plantas crecidas en condiciones controladas (G1) durante el 2021. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo para el tiempo en días y número de hojas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

	Variable	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2021 – Tiempo a floración en días G1	Tratamiento	261.46	1	2.2e-16	***
	Ecotipo	925.80	9	2.2e-16	***
	Tratamiento x Ecotipo	98.40	9	2.2e-16	***

Tabla 19B. Efectos del tratamiento de temperatura en plantas madre de la primera generación (G1) crecidas durante 2021. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para el tiempo en días para los 10 ecotipos en estudio. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2021 – Tiempo a floración en días G1, resultados por ecotipo				
Wa-1	2.3669	1	0.1239	ns
Ra-0	17.911	1	2.314e-05	***
Sha	7.2534	1	0.007077	**
Ler-0	0.0032154	1	0.9548	ns
Oy-0	5.3908	1	0.02024	*
Cvi-0	56.118	1	6.824e-14	***
Tu-0	12.027	1	0.0005245	***
Ws-0	128.33	1	< 2.2e-16	***
Cen-0	14.696	1	0.0001263	***
Öm2-1	115.77	1	< 2.2e-16	***

Laboratorio floración G1 – madres de semillas que fueron al campo en 2023

Para evaluar el efecto del ambiente sobre el tiempo a floración, se ajustó un modelo lineal generalizado y el análisis de la interacción reveló efectos significativos: tanto el efecto del ecotipo (Ecotipo: $\chi^2 = 1051.22$, $p < 2.2e-16$) como el efecto del tratamiento de temperatura (Tratamiento: $\chi^2 = 104.17$, $p < 2.2e-16$) fueron significativos, indicando que existen diferencias en el tiempo a floración debidas a la variación natural y el tratamiento materno. Además, se detectó una interacción significativa entre Ecotipo y tratamiento ($\chi^2 = 86.13$, $p = 9.69e-15$), lo que sugiere que la respuesta al tratamiento difiere según el ecotipo. Esta interacción indica que el efecto del tratamiento de temperatura sobre el tiempo a floración no es uniforme en todos los ecotipos evaluados, reflejando una posible influencia del origen genético en la sensibilidad al ambiente confirmando que el tratamiento de vernalización funciona.

Figura S2. Tiempo a floración en días para la primera generación de plantas y los 10 ecotipos en estudio. Las normas de reacción representan el promedio de tiempo a floración (días) por ecotipo, los colores muestran el tratamiento de temperatura recibido (naranja, NV; azul, V). Los paneles muestran los ecotipos: Cen-0, Cvi-0, Ler-0, Ömö2-1, Oy-0, Ra-0, Sha, Tu-0, Wa-1 y Ws-0 (de izquierda a derecha). Las barras de error indican el error estándar (DE).

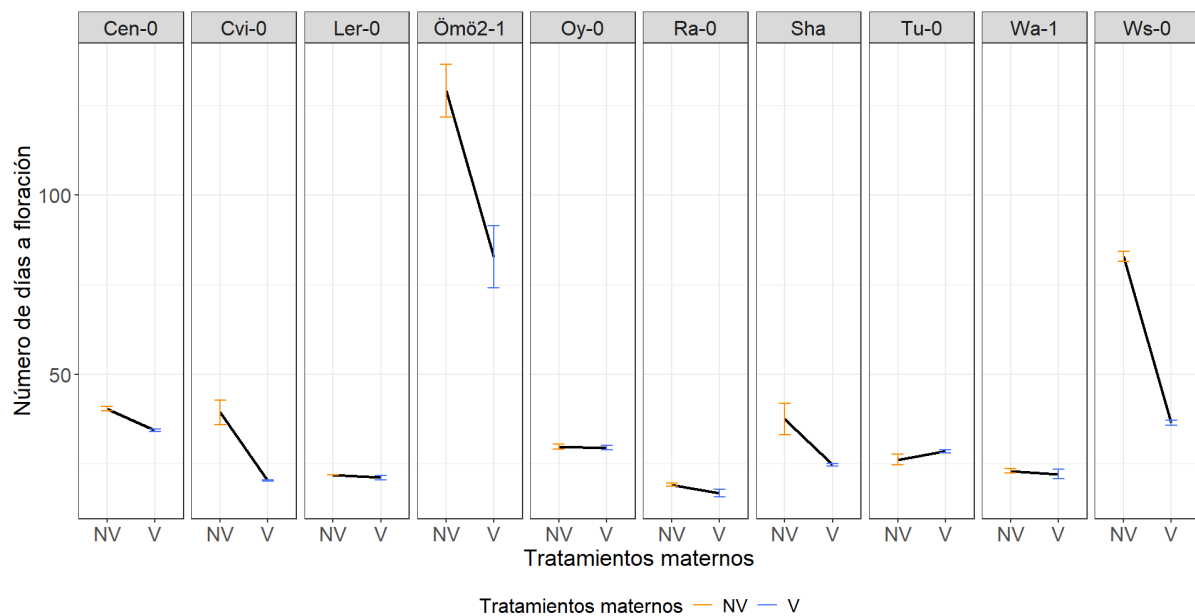


Tabla 20A. Efectos de la temperatura y el ecotipo sobre el tiempo a floración de la primera generación de plantas crecidas en condiciones controladas (G1) durante el 2022-23. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo para el tiempo a floración en días. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2022-23 – Tiempo a floración en días G1, ecotipos para campo				
Tratamiento	104.17	1	2.2e-16	***
Ecotipo	1051.22	9	2.2e-16	***
Tratamiento x Ecotipo	86.13	9	9.691e-15	***

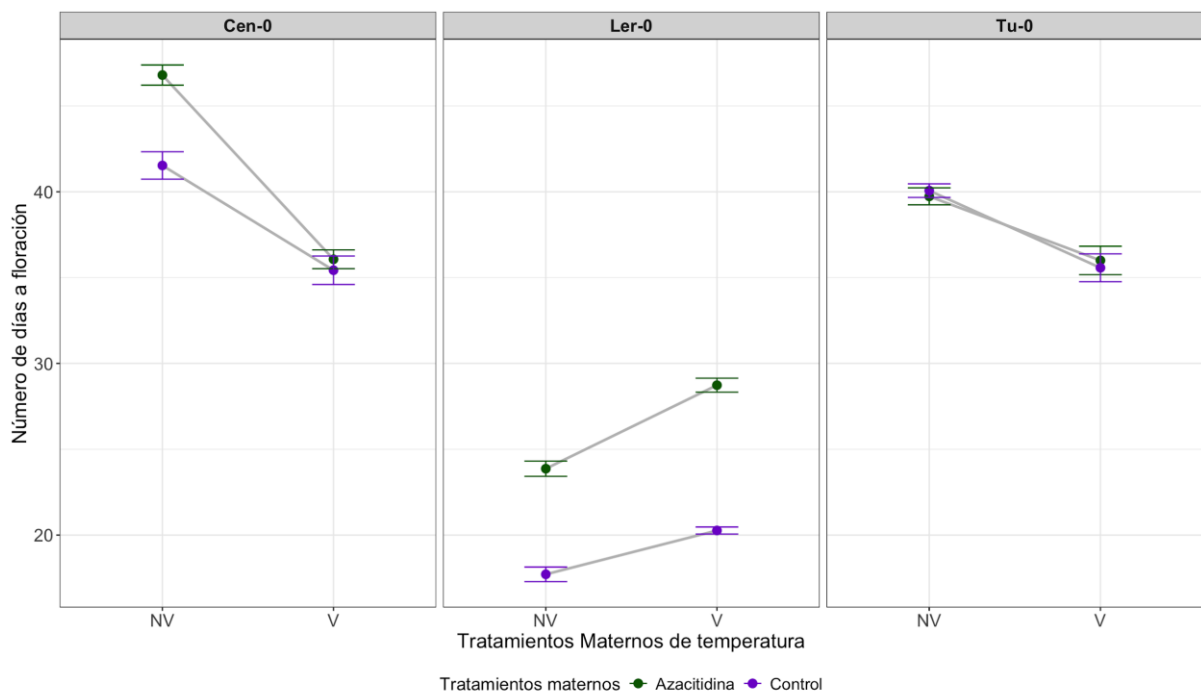
Tabla 20B. Efectos del tratamiento de temperatura en plantas madre de la primera generación (G1) crecidas durante 2022-23. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para el tiempo a floración en días para los 10 ecotipos en estudio. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2022-23 – Tiempo a floración en días G1, resultados por ecotipo				
Wa-1	0.092256	1	0.7613	ns
Ra-0	0.90804	1	0.3406	ns
Sha	16.01	1	6.3e-05	***
Ler-0	0.096531	1	0.756	ns
Oy-0	0.011236	1	0.9156	ns
Cvi-0	36.942	1	1.217e-09	***
Tu-0	0.59774	1	0.4394	ns
Ws-0	101.86	1	< 2.2e-16	***
Cen-0	1.9136	1	0.1666	ns
Öm62-1	31.867	1	1.651e-08	***

Laboratorio floración G1 2024 – Efecto de la Aza en el tiempo a floración de la primera generación en condiciones controladas

Para el ensayo de campo de 2024, se crecieron plantas en condiciones controladas con dos tratamientos diferentes: el primero fue la aplicación de Aza sobre las semillas que constituyen la G1: el segundo fue un tratamiento de temperatura no estresante, la vernalización. Al analizar los resultados de tiempo a floración, no se encontró una interacción significativa entre los tratamientos y los ecotipos, pero sí efectos por separado de cada uno de los tratamientos en los ecotipos. Profundizando en el análisis por Ecotipo, se encontró que el tratamiento de temperatura tuvo un efecto significativo en el tiempo a floración de la progenie, para Cen-0 y Tu-0, la vernalización disminuyó el tiempo a floración de la progenie mientras que para Ler-0 se observó el efecto contrario (Figura S3), la vernalización aumentó el número de días a floración. En cuanto al tratamiento con Aza, se observó un efecto significativo del tratamiento para el Ecotipo Ler-0, las plantas tratadas con Aza tardaron más tiempo en florecer que aquellas crecidas en condiciones control. Estos resultados confirman que los tratamientos tuvieron un efecto en la generación madre en fases fenológicas posteriores a la germinación, en condiciones controladas.

Figura S3. Tiempo a floración en días para la primera generación de plantas y los 3 ecotipos en estudio para el año 2024. Las normas de reacción representan el promedio de tiempo a floración (días) por ecotipo, en el eje x están los tratamientos maternos de temperatura (NV, No Vernalización; V, Vernalización), los colores muestran el tratamiento de la G1 (verde, Aza; violeta, Control). Los paneles muestran cada uno de los ecotipos. Las barras de error indican el error estándar (DE).



Información suplementaria – Capítulo III

Tabla 21A. Efectos de la temperatura y el ecotipo sobre el área foliar de la roseta de la primera generación de plantas crecidas en condiciones controladas (G1) durante el 2022-23. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo para el tiempo a floración en días. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Gamma. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2022-23 – Área foliar de la roseta G1, ecotipos para campo				
Tratamiento	9.26	1	0.002343	**
Ecotipo	464.46	9	2.2e-16	***
Tratamiento x Ecotipo	94.87	9	2.2e-16	***

Tabla 21B. Efectos del tratamiento de temperatura en plantas madre de la primera generación (G1) crecidas durante 2022-23. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para el área foliar de la roseta para los 10 ecotipos en estudio. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Gamma. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2022-23 – Área foliar de lo roseta G1, resultados por ecotipo				
Wa-1	1.202	1	0.2729	ns
Ra-0	27.814	1	1.335e-07	***
Sha	4.2235	1	0.03987	*
Ler-0	17.134	1	3.483e-05	***
Oy-0	0.31069	1	0.5773	ns
Cvi-0	6.7889	1	0.009173	**
Tu-0	3.8822	1	0.0488	ns
Ws-0	0.07661	1	0.7819	ns
Cen-0	19.887	1	8.215e-06	***
Öm62-1	1.0585	1	0.3036	ns

Tabla 22A. Efectos de la temperatura y el ecotipo sobre el diámetro de la roseta de la primera generación de plantas crecidas en condiciones controladas (G1) durante el 2022-23. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo para el tiempo a floración en días. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Gamma. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2022-23 – Diámetro de la roseta G1, ecotipos para campo				
Tratamiento	4.93	1	0.02633	*
Ecotipo	382.05	9	2.2e-16	***
Tratamiento x Ecotipo	76.19	9	9.197e-13	***

Tabla 22B. Efectos del tratamiento de temperatura en plantas madre de la primera generación (G1) crecidas durante 2022-23. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para el diámetro de la roseta para los 10 ecotipos en estudio. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Gamma. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2022-23 – Diámetro de lo roseta G1, resultados por ecotipo				
Wa-1	2.0116	1	0.1561	ns
Ra-0	15.422	1	8.599e-05	***
Sha	2.1082	1	0.1465	ns
Ler-0	11.031	1	0.0008961	***
Oy-0	1.5036	1	0.2201	ns
Cvi-0	14.111	1	0.0001723	***
Tu-0	2.817	1	0.09327	ns
Ws-0	7.2099	1	0.00725	**
Cen-0	29.798	1	4.795e-08	***
Ömö2-1	4.4563	1	0.03477	*

Tabla 23A. Efectos del tratamiento de temperatura y el ecotipo sobre el peso de las semillas (G2) producidas por la primera generación de plantas crecidas en condiciones controladas (G1) durante el 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo para el peso de semillas producidas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Gamma. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de Libertad	p-valor	significancia
2023 – Peso de semillas G2				
Tratamiento	5.871	1	0.01539	*
Ecotipo	129.679	8	< 2.2e-16	***
Tratamiento x Ecotipo	86.702	8	2.169e-15	***

Tabla 23B. Efectos del tratamiento de temperatura en la producción de semillas G2 durante 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para la producción total de semillas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Gamma. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2023 – Peso de semillas G2, resultados por ecotipo				
Wa-1	6.1903	1	0.01284	*
Ra-0	1.9238	1	0.1654	ns
Sha	33.045	1	9.003e-09	***
Ler-0	5.0348	1	0.02484	*
Oy-0	0.74785	1	0.3872	ns
Cvi-0	25.515	1	4.39e-07	***
Tu-0	0.003965	1	0.9498	ns
Ws-0	21.2	1	4.139e-06	***
Cen-0	4.3087	1	0.03792	*
Öm2-1	50.322	1	1.305e-12	***

Tabla 24A. Efectos del tratamiento de temperatura en el área de semillas G2 durante 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para el área de semillas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Gamma. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de Libertad	p-valor	significancia
2023 – Área de semillas G2				
Tratamiento	8.95	1	0.002771	**
Ecotipo	286.96	9	< 2.2e-16	***
Tratamiento x Ecotipo	587.31	9	< 2.2e-16	***

Tabla 24B. Efectos del tratamiento de temperatura en el área de semillas G2 durante 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para el área de semillas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Gamma. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2023 – Área de semillas G2, resultados por ecotipo				
Wa-1	0	1	1	ns
Ra-0	53.618	1	2.435e-13	***
Sha	4.172	1	0.0411	*
Ler-0	26.495	1	2.642e-07	***
Oy-0	184.78	1	< 2.2e-16	***
Cvi-0	153.88	1	< 2.2e-16	***
Tu-0	91.777	1	< 2.2e-16	***
Ws-0	27.432	1	1.628e-07	***
Cen-0	253.13	1	< 2.2e-16	***
Ömö2-1	1.0414	1	0.3075	ns

Tabla 25A. Efectos de la temperatura de dos tratamientos y el ecotipo en el área foliar de la progenie para la segunda generación. La tabla muestra los efectos de la temperatura de dos generaciones (tratamiento G1: V y NV, tratamiento G2: V y NV) y su interacción con el ecotipo (modelo full) para el área foliar. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit y una familia de distribución poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de Libertad	p-valor	significancia
2022 – Área foliar G2				
Ecotipo	2301.21	9	< 2.2e-16	***
Tratamiento G1	1.13	1	0.2885	ns
Tratamiento G2	115.78	1	< 2.2e-16	***
Ecotipo x Trat. G1	73.16	9	3.652e-12	***
Ecotipo x Trat. G2	72.91	9	4.074e-12	***
Trat. G1 x Trat. G2	0.11	1	0.7450	ns
Ecotipo x Trat. G1 x Trat. G2	55.68	9	9.039e-09	***

Tabla 25B. Efectos de la temperatura de dos tratamientos por ecotipo en el área foliar de la G2. La tabla muestra los efectos de la temperatura de dos generaciones (tratamiento G1: V y NV, tratamiento G2: V y NV) por ecotipo para el área foliar. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace logit y una familia de distribución poisson. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2022 – Área foliar G2, resultados por ecotipo				
Wa-1	4.0824	1	0.04333	*
Ra-0	5.4171	1	0.01994	*
Sha	32.305	1	1.318e-08	***
Ler-0	0.01807	1	0.8931	ns
Oy-0	0.9893	1	0.319914	ns
Cvi-0	0.086	1	0.7688	ns
Tu-0	0.373	1	0.5414	ns
Ws-0	0.0028	1	0.957806	ns
Cen-0	9.4554	1	0.0021052	**
Ömö2-1	3.0558	1	0.08045	ns

Tabla 26A. Efectos del tratamiento de temperatura y el ecotipo sobre el peso de las semillas (G3) producidas por la segunda generación de plantas crecidas en condiciones controladas (G2). La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos G1 y G2: V y NV) y su interacción con el ecotipo para el peso de semillas producidas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Gamma. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de Libertad	p-valor	significancia
Peso de semillas G3				
Ecotipo	97.598	9	< 2.2e-16	***
Tratamiento G1	2.555	1	0.10991	ns
Tratamiento G2	6.246	1	0.01245	*
Ecotipo x Trat. G1	9.675	9	0.37747	ns
Ecotipo x Trat. G2	49.274	9	1.474e-07	***
Trat. G1 x Trat. G2	0.083	1	0.77329	ns
Ecotipo x Trat. G1 x Trat. G2	6.815	9	0.65633	ns

Tabla 26B. Efectos del tratamiento de temperatura en la producción de semillas G3. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos G1 y G2: V y NV) para la producción total de semillas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Gamma. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
Peso de semillas G3, resultados por ecotipo				
Wa-1	1.9032	1	0.1677	ns
Ra-0	0.29891	1	0.5846	ns
Sha	0.13124	1	0.7172	ns
Ler-0	0.00606	1	0.93795	ns
Oy-0	0.59910	1	0.4389	ns
Cvi-0	0.3338	1	0.56340	ns
Tu-0	0.48253	1	0.4873	ns
Ws-0	0.6135	1	0.4335	ns
Cen-0	1.90866	1	0.1671	ns
Öm2-1	4.889	1	0.027027	*

Tabla 27A. Efectos del tratamiento de temperatura en el área de semillas G3 durante 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para el área de semillas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Gamma. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de Libertad	p-valor	significancia
2023 – Área de semillas G3				
Ecotipo	627.83	9	< 2.2e-16	***
Tratamiento 1	40.61	1	1.858e-10	***
Tratamiento 2	22.85	1	1.752e-06	***
Ecotipo x Tratamiento 1	181.86	9	< 2.2e-16	***
Ecotipo x Tratamiento 2	302.59	9	< 2.2e-16	***
Trat. 1 x Trat. 2	0.43	1	0.511523	ns
Ecotipo x Trat. 1 x Trat. 2	23.29	9	0.005574	**

Tabla 27B. Efectos del tratamiento de temperatura en el área de semillas G3 durante 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para el área de semillas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Gamma. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2023 – Área de semillas G3, resultados por ecotipo				
Wa-1	0.886	1	0.3466	ns
Ra-0	0.208	1	0.6486	ns
Sha	1.2874	1	0.2565	ns
Ler-0	2.657	1	0.1031	ns
Oy-0	0.454	1	0.5005	ns
Cvi-0	8.0715	1	0.004497	**
Tu-0	18.193	1	1.996e-05	***
Ws-0	11.8953	1	0.0005628	***
Cen-0	1.528	1	0.2163	ns
Öm2-1	0.00338	1	0.9536	ns

Tabla 28A. Efectos de la temperatura materna y el ecotipo en la biomasa aérea de la segunda generación de plantas crecidas durante la primera siembra de otoño del año 2023, segunda siembra. La tabla muestra los efectos de la temperatura materna (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo (modelo full) para plantas recién florecidas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Gamma. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de Libertad	p-valor	Significancia
2023 – Biomasa Aérea - Otoño Primera Siembra				
Tratamiento Materno	0.790	1	0.3741	ns
Ecotipo	44.020	9	1.399e-06	***
Tratamiento x Ecotipo	6.024	8	0.6446	ns

Tabla 28B. Efectos del tratamiento de temperatura en la biomasa aérea de plantas sembradas durante la primera siembra de otoño de 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para el número de hojas a floración de los 10 ecotipos en estudio. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Gamma. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2023 – Biomasa Aérea, resultados por Ecotipo, primera siembra otoño				
Wa-1	0.044803	1	0.8324	ns
Ra-0	0.042846	1	0.836	ns
Sha	1.0109	1	0.3147	ns
Ler-0	1.1461	1	0.2844	ns
Oy-0	0.0006762	1	0.9793	ns
Cvi-0	0.4563	1	0.4994	ns
Tu-0	0.1225	1	0.7263	ns
Ws-0	0.61595	1	0.4326	ns
Cen-0	4.2555	1	0.03912	*
Ömö2-1 ⁵				

⁵ Este ecotipo no contó con sobrevivientes en la última etapa fenológica.

Tabla 29A. Efectos de la temperatura materna y el ecotipo en la biomasa aérea de la segunda generación de plantas crecidas durante la segunda siembra de otoño del año 2023, segunda siembra. La tabla muestra los efectos de la temperatura materna (tratamientos: V y NV) y su interacción con el ecotipo (modelo full) para plantas recién florecidas. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Gamma. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Variable	χ^2	Grados de Libertad	p-valor	Significancia
2023 – Biomasa Aérea - Otoño Segunda Siembra				
Tratamiento Materno	1.2995	1	0.2543049	ns
Ecotipo	31.0216	9	0.0002935	***
Tratamiento x Ecotipo	11.3957	8	0.2495586	ns

Tabla 29B. Efectos del tratamiento de temperatura en la biomasa aérea de plantas sembradas durante la segunda siembra de otoño de 2023. La tabla muestra los efectos de la temperatura (tratamientos: V y NV) para el número de hojas a floración de los 10 ecotipos en estudio. Los tests se basan en un análisis de tipo III de máxima verosimilitud de un modelo lineal generalizado con una función de enlace log, familia de distribución Gamma. En la tabla se muestran los valores de χ^2 , los grados de libertad, los p-valores y la significancia asociada. Las diferencias significativas se muestran con asteriscos: ***, $p < 0,001$; **, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$; ns, $p > 0,05$.

Ecotipo	χ^2	Grados de libertad	p-valor	significancia
2023 – Biomasa Aérea, resultados por Ecotipo, segunda siembra otoño				
Wa-1	0.025551	1	0.873	ns
Ra-0	5.5716	1	0.01825	*
Sha	0.0005118	1	0.982	ns
Ler-0	0.55352	1	0.4569	ns
Oy-0	3.9822	1	0.04598	*
Cvi-0	2.3546	1	0.1249	ns
Tu-0	0.18381	1	0.6681	ns
Ws-0	1.9079	1	0.1672	ns
Cen-0	0.045247	1	0.8316	ns
Ömö2-1	3.5721	1	0.05876	ns

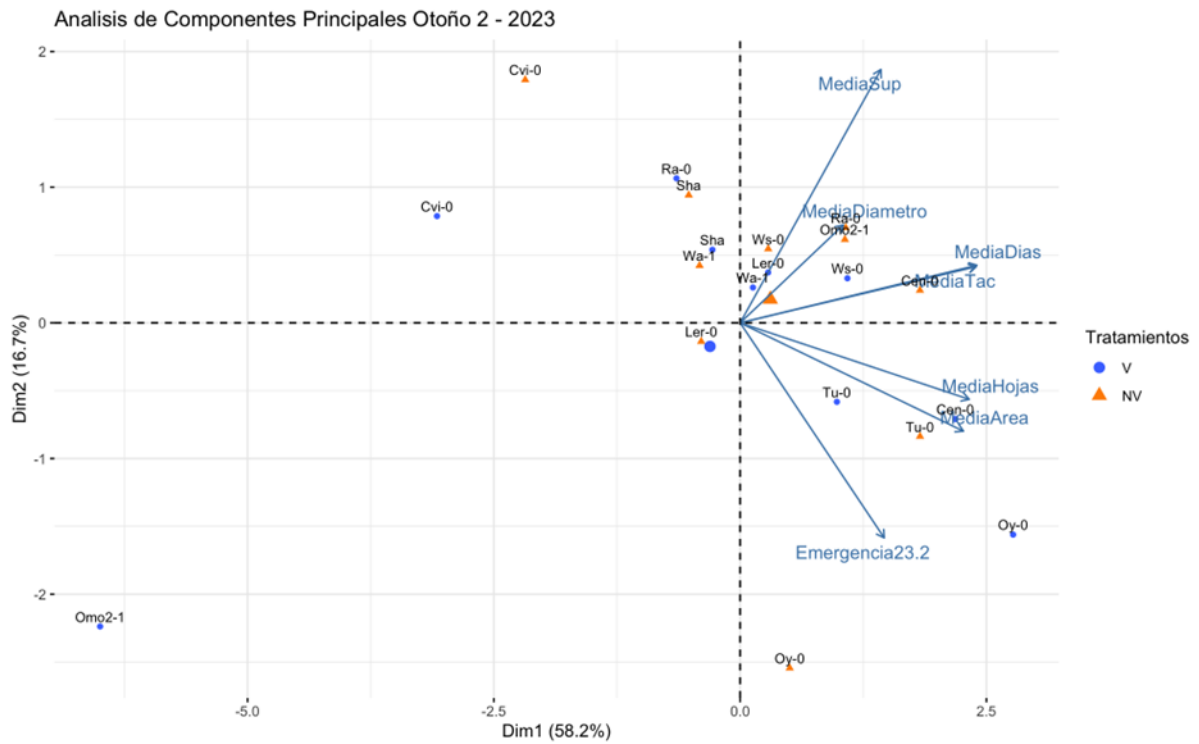


Figura S4. Análisis de Componentes Principales (PCA) de la segunda siembra de otoño del año 2023. Se incluyen siete variables: emergencia a campo (Emergencia23.2), temperatura acumulada promedio (MediaTAC), número de hojas a floración (MediaHojas), número de días a floración (MediaDias), porcentaje de supervivencia (MediaSup), área foliar (MediaArea) y diámetro foliar (MediaDiametro). Los puntos representan distintos ecotipos bajo dos tratamientos maternos: V (círculos azules) y NV (triángulos naranjas).

Gabriela Auge

Ailén Authier