

Mecanismos asociados a la producción de granos en soja frente a cambios en el fotoperíodo en post-floración

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires,
Área Ciencias Agropecuarias*

Magalí Nico
Ingeniera Agrónoma
Universidad de Buenos Aires
2016

Lugar de trabajo: Cátedra de Cultivos Industriales
Departamento de Producción Vegetal
Facultad de Agronomía
Universidad de Buenos Aires



Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

Directora de tesis

Adriana G. Kantolic

Ingeniera Agrónoma (Universidad de Buenos Aires)
Doctora en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

Co-director

Daniel J. Miralles

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)
Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

Consejera de Estudios

Anita I. Mantese

Ingeniera Agrónoma (Universidad de Buenos Aires)
Magister Scientiæ (Universidad de Buenos Aires)

JURADO DE TESIS

Directora de tesis

Adriana G. Kantolic

Ingeniera Agrónoma (Universidad de Buenos Aires)
Doctora en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)

JURADO

Eligio N. Morandi

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional de La Plata)

JURADO

Octavio P. Caviglia

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional de Entre Ríos)
Doctor en Ciencias Agrarias (Universidad Nacional de Mar del Plata)

JURADO

Juan José Guiamet

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional de Rosario)
Ph. D. Botany (University of Michigan)

Fecha de defensa de la tesis: 21 de marzo de 2016.

DEDICATORIA

Para los curiosos que preguntan.

AGRADECIMIENTOS

A Adriana y Daniel por la confianza que depositaron en mí al sumarme a sus proyectos. Gracias por sus consejos y sus comentarios y, en especial, gracias por darme la libertad y apoyo para adueñarme de sus ideas y conducir las por un nuevo camino. Han inculcado en mi formación como docente e investigadora el esfuerzo, compromiso, calidad y bondad que los caracteriza.

A Anita por toda su ayuda y paciencia para enseñarme a hacer los cortes histológicos. Por sus claras explicaciones botánicas, siempre con un rico té y una sonrisa.

A los pones por su amor infinito, el condimento indispensable de mi vida. Muchas gracias por contagiarme todo su amor por las plantas. Gracias por su incondicional apoyo en todo lo que hago, por acompañarme los fines de semana al campito, por venir a almorzar bajo El Cedro o en el Jardín Botánico. Y en especial muchas gracias por todo lo que han aprendido de la soja y el fotoperíodo.

A Juan por su sonrisa en la ventana del Anexo, por sus dulces palabras de apoyo en los momentos difíciles del doctorado, por sus aportes a la tesis y por todos los sueños que compartimos.

A Ceci por su invaluable compañía, contagiosa energía y enorme ayuda durante los dos primeros ensayos de esta tesis.

A todos los que me dieron una mano con el trabajo de campo. Por suerte fueron muchos y por mala suerte no puedo recordarlos a todos. A Luis, por ayudarme siempre y sus silbidos de compañía en el campo. Gracias a Pato, Dami, Juan, Andrés, Juli y en especial, muchas gracias a Facu. A todos los que pasaron alguna tarde de otoño por mi casa y se pusieron a trillar vainas, especialmente a Labi y Roxana.

A mis compañeros de las cátedras de Cultivos Industriales, Cereales y Producción Vegetal, en especial a aquellos que se han convertido en grandes amigos con el pasar de los años. Por los viajes bajo el lema “cumbre o muerte”, los asados en el campito, las fiestas de disfraces, por todo lo fructífero e infructífero que fructifica en el Anexo, los mates con cremona en el galpón, los almuerzos en nuestra nueva mesa y tantas cosas más. A Juani, Luis, Ale, Nacho, Beto, Carli, Román, Pato, Romi, Bel, Euge, Gina, Paulita, el Negro, Rena, Guille, Pepe, Dody, Gaby, Luquitas, Jaime, Robin, Marianne, Fer, Rulo, Coni, Quique, Cris, Claudia, Lu, Juan, Nati, Ro, Diego, Patricia, Mónica, Elba, Ale, Pili, Edy, Roberto, Mirta, Jorge, Gustavo, María, Richard, Karina, Deborah, Betina, Lili, Flor, Ali, Antonio y Santiago.

A Gaby Zarlavsky por su ayuda en el Laboratorio de Anatomía Vegetal. A Laura Puhl por su ayuda con la elaboración del modelo estadístico de sensibilidad fotoperiódica. A Gus Slafer y a los editores y revisores anónimos que evaluaron los trabajos científicos derivados de esta tesis por su contribución al entendimiento y calidad de los mismos. A los jurados por sus comentarios y la valiosa discusión que mantuvimos durante la defensa de la tesis.

A la Facultad, con cada uno de sus integrantes y cada uno de sus hermosos árboles, por deslumbrarme desde el primer día, por hacer que venir sábados y domingos a trabajar en época de ensayo no fuera tan pesado y por retenerme con sus encantos. A todo el personal de la EPG (Meli, Romi, Laura, Amelia y Susana) por su ayuda y buena predisposición en todo momento.

A R. Rossi y W. Santone de Nidera Argentina y F. Rizzo y P. de Luca de Don Mario por su cordial atención y las semillas de soja. A R. Paglione de BASF Argentina por los

inoculantes y agroquímicos y a M. Heis de Summit Agro por los reguladores de crecimiento.

A la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica por la beca de iniciación de doctorado. A Monsanto Argentina y la FAUBA por la beca de doctorado "Ing. Fabio Nider" (y especialmente al personal de la FAUBA involucrado en la gestión de esta beca). A la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica y la Universidad de Buenos Aires por la financiación de los proyectos en los cuales se enmarcó esta tesis.

Además, me gustaría darles las gracias a todos los que no estuvieron directamente involucrados en la tesis, pero que me acompañaron durante toda esta etapa e hicieron que la termine con una enorme sonrisa: Al resto de mi familia, en especial a mis abuelos por su enorme cariño, orgullo y apoyo. A mis amigas de toda la vida (y sus retoños), con sus constantes preguntas sobre el agro y su creciente amor por las plantas. A Florcita, por todo lo que hemos hecho juntas en la facultad y por esas preciadas vacaciones de montaña después de la cosecha. A la Barra Lenta por todas las charlas de todo un poco, en especial por las de música y viajes, las quiero y disfruto con toda mi alma. A todo El Verde por los entrenamientos, las promos en ciudad, las juntadas en Araoz y los "miércoles mujer", los viajes a la costa, los quinientos mails y mensajes, las arengas, los despertadores del domingo, los mates en la tribuna, las frutillas, lágrimas y alegría dentro de la cancha y en especial por todas las cosas lindas que vivimos fuera de la cancha.

DECLARACIÓN

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.

Magali Nico

PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS

- **Nico, M;** Miralles, DJ; Kantolic, AG. 2015. Post-flowering photoperiod and radiation interaction in soybean yield determination: Direct and indirect photoperiodic effects. *Field Crops Research* 176: 45–55.
- **Nico, M;** Mantese, AI; Miralles, DJ; Kantolic, AG. 2016. Soybean fruit development and set at the node level under combined photoperiod and radiation conditions. *Journal of Experimental Botany* 67: 365–377.

ÍNDICE GENERAL

Publicaciones derivadas de la tesis	ix
Índice general	xi
Índice de cuadros	xiii
Índice de figuras	xv
Abreviaturas	xvii
Referencias	xix
Resumen	xxi
Abstract	xxiii
Capítulo 1	1
1. Introducción general	1
1.1. Planteo del problema	1
1.2. Revisión de antecedentes	2
1.2.1. Componentes del rendimiento	2
1.2.2. Morfología reproductiva de <i>Glycine max</i>	3
1.2.3. ¿Cómo se genera el número de granos en el cultivo de soja?	4
1.2.4. Respuesta fotoperiódica	6
1.2.5. Control genético de la respuesta fotoperiódica en soja	9
1.3. Objetivos	10
1.4. Hipótesis	10
1.5. Estructura de la tesis	11
Capítulo 2	13
2. Interacción entre el fotoperíodo y la radiación en la determinación del rendimiento a nivel de cultivo: efectos fotoperiódicos directos e indirectos	13
2.1. Introducción	13
2.2. Materiales y métodos	14
2.2.1. Cultivo	14
2.2.2. Tratamientos	15
2.2.3. Recolección y análisis de datos	16
2.2.4. Diseño experimental y análisis estadístico	17
2.3. Resultados	18
2.3.1. Condiciones ambientales	18
2.3.2. Desarrollo del cultivo	19
2.3.3. Crecimiento y rendimiento	20
2.3.4. Componentes numéricos del rendimiento	23
2.3.5. Efectos fotoperiódicos directos e indirectos	28
2.4. Discusión	30
Capítulo 3	37
3. Desarrollo y establecimiento de vainas a nivel de nudo bajo condiciones combinadas de fotoperíodo y radiación	37
3.1. Introducción	37
3.2. Materiales y métodos	38
3.2.1. Cultivo y tratamientos	38

3.2.2. Recolección y análisis de datos.....	38
3.2.3. Microscopía óptica.....	39
3.2.4. Diseño experimental y análisis estadístico	40
3.3. Resultados.....	40
3.3.1. Perfiles de distribución de vainas	40
3.3.2. Producción de flores y vainas por nudo.....	42
3.3.3. Dinámica de floración y establecimiento de vainas a nivel de nudo	44
3.3.4. Relación entre el desarrollo y número final de vainas	48
3.4. Discusión	50
Capítulo 4	55
4. Variabilidad genotípica en líneas casi-isogénicas (NIL) y genotipos comerciales de soja para los mecanismos de respuesta fotoperiódica en post-floración.....	55
4.1. Introducción	55
4.2. Materiales y métodos.....	58
4.2.1. Cultivo	58
4.2.2. Tratamientos	58
4.2.3. Recolección y análisis de datos.....	60
4.2.4. Diseño experimental y análisis estadístico	61
4.3. Resultados	61
4.3.1. Condiciones ambientales	61
4.3.2. Desarrollo del cultivo.....	62
4.3.3. Crecimiento, rendimiento y sus componentes numéricos.....	66
4.3.4. Producción de nudos y vainas por nudo	70
4.3.5. Floración, desarrollo y establecimiento de vainas a nivel de nudo.....	78
4.4. Discusión	86
Capítulo 5	93
5. Discusión general.....	93
5.1. Introducción	93
5.2. Esquema general y contraste de hipótesis	93
5.3. Contribución al avance del conocimiento.....	97
5.3.1. Generación del rendimiento.....	97
5.3.2. Control fotoperiódico del desarrollo de vainas	97
5.3.3. Variabilidad genotípica.....	98
5.4. Aplicación.....	98
5.4.1. Mejoramiento genético	98
5.4.2. Modelos de simulación	98
5.5. Nuevos interrogantes y futuras líneas de investigación	99
5.5.1. Genes involucrados en la respuesta fotoperiódica post-floración.....	99
5.5.2. Características de la interacción intra-nodal entre vainas.....	99
5.5.3. Rol de las hormonas y azúcares	99
5.5.4. Corroboración de los efectos fotoperiódicos directos en genotipos determinados ..	100
5.5.5. Condiciones no potenciales de crecimiento	100
5.5.6. Efecto fotoperiódico sobre la oferta y demanda de asimilados a nivel de nudo	101
5.5.7. Modelos de simulación	101
5.6. Conclusiones	102
Referencias Bibliográficas	103
Anexo	115

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1. Condiciones ambientales durante el Exp1 y Exp2.	18
Cuadro 2.2. Rendimiento y componentes.	20
Cuadro 2.3. Tasa, inicio y fin (madurez fisiológica) del llenado efectivo de granos.	24
Cuadro 2.4. Componentes numéricos del rendimiento.	25
Cuadro 2.5. Efecto fotoperiódico indirecto y directo sobre el número de nudos por m ²	29
Cuadro 3.1. Número promedio de flores abiertas y número final de vainas por nudo...	43
Cuadro 3.2. Duración promedio de la fase <i>lag</i>	45
Cuadro 3.3. Coeficientes de sendero directos e indirectos	49
Cuadro 4.1. Detalle de los genotipos.	60
Cuadro 4.2. Condiciones ambientales.	62
Cuadro 4.3. Sensibilidad fotoperiódica post-floración.	65
Cuadro 4.4. Componentes del rendimiento.	68
Cuadro 4.5. Componentes del rendimiento a nivel de nudo.	79
Cuadro 4.6. Duración de la fase <i>lag</i> de vainas y la floración.	82
Cuadro 4.7. Coeficientes de sendero	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Componentes numéricos del rendimiento en el cultivo de soja.	2
Figura 1.2. Definición temporal de los componentes numéricos del rendimiento a lo largo del ciclo ontogénico del cultivo de soja.	3
Figura 1.3. Marcha anual del fotoperíodo y respuesta fotoperiódica de soja	7
Figura 2.1. Vista diurna y nocturna del Exp2 durante el momento de extensión artificial del fotoperíodo.	15
Figura 2.2. Duración de las subetapas reproductivas.....	19
Figura 2.3. Relación entre el tiempo a madurez, la radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada durante todo el ciclo (RFA _{VE-R7}), la biomasa aérea y el rendimiento.....	21
Figura 2.4. Partición de biomasa	22
Figura 2.5. Llenado de granos.	24
Figura 2.6. Relación entre el número de nudos por m ² y el tiempo a llenado efectivo de granos (R6).....	27
Figura 2.7. Relación entre el rendimiento y el número de nudos por m ² o la radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada durante post-floración (RFA _{R1-R7})	27
Figura 2.8. Relación entre el número de nudos por m ² y la radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada desde emergencia hasta el llenado efectivo de granos (RFA _{VE-R6})	29
Figura 2.9. Eficiencia en el uso de la radiación.....	35
Figura 3.1. Representación esquemática de plantas de soja.....	38
Figura 3.2. Perfil de distribución de vainas en el tallo principal.	41
Figura 3.3. Desarrollo de la primera vaina en función de los días termales desde floración	44
Figura 3.4. Desarrollo externo e interno del primer órgano reproductivo	47
Figura 3.5. Diagramas de sendero	48
Figura 3.6. Relación entre el tiempo a última flor y el tiempo a primera vaina en llenado efectivo.....	49
Figura 4.1. Control génico de la respuesta fotoperiódica pre y post-floración en soja. .	56
Figura 4.2. Vista general del Exp4.	59
Figura 4.3. Duración de las subetapas del ciclo de cultivo.	63
Figura 4.4. Sensibilidad fotoperiódica post-floración.	65
Figura 4.5. Proporción reproductiva del ciclo.	66
Figura 4.6. Biomasa, rendimiento e índice de cosecha.....	67
Figura 4.7. Representación esquemática de la interacción genotipo*fecha de siembra. .	69
Figura 4.8. Producción de nudos.	70

Figura 4.9. Perfil de distribución espacial de vainas a madurez.....	72
Figura 4.10. Rendimiento y número de nudos.....	75
Figura 4.11. Rendimiento y radiación.....	76
Figura 4.12. Efectos fotoperiódicos directos e indirectos sobre la producción de nudos.	77
Figura 4.13. Eficiencia en el uso de la radiación para rendimiento y RFA_{R1-R7} en función del cociente entre la radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada entre R1 y R7 (RFA_{R1-R7}) y el número total de nudos.	78
Figura 4.14. Desarrollo/elongación de la primera vaina en función de los días termales desde floración.....	80
Figura 4.15. Coincidencia entre el fin de la floración y el comienzo del llenado de granos.	83
Figura 4.16. Relación entre las variables componentes del análisis de sendero	85
Figura 5.1. Esquema general de los principales mecanismos asociados a la producción de granos en soja frente a cambios en el fotoperíodo en post-floración identificados en esta tesis.	94
Figura A.1. Desarrollo de la primera vaina en función de los días termales desde floración (R1).	115
Figura A.2. Fase <i>lag</i> de una vaina en función del fotoperíodo en el momento de apertura de la flor que le dio origen.	117
Figura A.3. Perfil de distribución espacial de vainas a madurez.....	118

ABREVIATURAS

1,5 h: fotoperíodo extendido 1,5 h

3 h: fotoperíodo extendido 3 h

DM4670: genotipo DON MARIO 4670

DM4970: genotipo DON MARIO 4970

NA5009: genotipo NIDERA A 5009 RG

NA5509: genotipo NIDERA A 5509RG

A: flor abierta

AP: gen *APETALA*

BF: vaina con granos >3 mm

c: coeficiente de sensibilidad fotoperiódica pre-floración

co: cotiledón

CO: gen *CONSTANS*

CRY: gen *CRYPTOCHROME*

cs: cubierta seminal

ctrl: control

DPV: déficit de presión de vapor

dt: días termales

emb: embrión

end: endosperma

EUR_{R,RFA}: eficiencia en el uso de la radiación

Exp1: experimento 1, campaña 2009

Exp2: experimento 2, campaña 2009/10

Exp3: experimento 3, campaña 2010/11

Exp4: experimento 4, campaña 2011/12

FdeS: fecha de siembra

FP: fotoperíodo

FT: gen *FLOWERING LOCUS T*

FT: proteína FLOWERING LOCUS T

GI: gen *GIGANTEA*

hv: haces vasculares

IC: índice de cosecha

iRFA: radiación fotosintéticamente activa incidente diaria

NA: posición apical del tallo principal

NB: posición basal del tallo principal

NIL: siglas del inglés *Near Isogenic Lines*: líneas casi isogénicas

NIL 1: genotipo OT93-28

NIL 2: genotipo OT94-41

NIL 3: genotipo L84-307

NIL 4: genotipo L63-3117

NIL 5: genotipo L63-2404

NIL 6: genotipo L80-5914

NIL 7: genotipo Clark

NIL 8: genotipo L64-4584

NM: posición media del tallo principal

noS: tratamientos no sombreados

ns: no significativo

ov: ovario

P₀: vaina <1 cm de longitud

P₁: vaina de 1 a 2 cm de longitud

P₂: vaina de 2 a 3 cm de longitud

P₃: vaina de 3 a 4 cm de longitud

P₄: vaina de 4 a 5 cm de longitud

P₅: vaina >5 cm de longitud

PHYA: gen *PHYTOCHROME A*

po: pared del ovario

QTL: siglas del inglés *Quantitative Trait Loci*, loci de caracteres cuantitativos

R:RL: rojo:rojo lejano

R1: comienzo de floración (escala de Fehr y Caviness)

R3: comienzo de fructificación (escala de Fehr y Caviness)

R4: plena fructificación (escala de Fehr y Caviness)

R5: comienzo de llenado de granos (escala de Fehr y Caviness)

R6: pleno llenado de granos (escala de Fehr y Caviness)

R7: comienzo de madurez (escala de Fehr y Caviness)

R8: plena madurez (escala de Fehr y Caviness)

RFAR_{1-R7}: radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada durante R1-R7

RFAVE-R₆: radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada durante VE-R6

RFAVE-R₇: radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada durante VE-R7

S: tratamientos sombreados

te: tegumento externo

TFL: gen *TERMINAL FLOWER*

ti: tegumento interno

VPN: vainas por nudo

REFERENCIAS

Capítulo 2

- Exp1 – Fotoperíodo control – No sombreado
- Exp1 – Fotoperíodo control – Sombreado
- Exp1 – Fotoperíodo extendido 3 h – No sombreado
- Exp1 – Fotoperíodo extendido 3 h – Sombreado
- Exp2 – Fotoperíodo control – No sombreado
- Exp2 – Fotoperíodo control – Sombreado
- ▲— Exp2 – Fotoperíodo extendido 1,5 h – No sombreado
- △-- Exp2 – Fotoperíodo extendido 1,5 h – Sombreado
- Exp2 – Fotoperíodo extendido 3 h – No sombreado
- Exp2 – Fotoperíodo extendido 3 h – Sombreado

Capítulo 3

- Fotoperíodo control – Racimo primario
- Fotoperíodo control – Racimos laterales
- ▲— Fotoperíodo extendido 1,5 h – Racimo primario
- △-- Fotoperíodo extendido 1,5 h – Racimos laterales
- Fotoperíodo extendido 3 h – Racimo primario
- Fotoperíodo extendido 3 h – Racimos laterales

Capítulo 4

- Exp3 – 1ra. FdeS – No sombreado
- Exp3 – 1ra. FdeS – Sombreado
- Exp3 – 2da. FdeS – No sombreado
- Exp4 – 1ra. FdeS – No sombreado
- Exp4 – 1ra. FdeS – Sombreado
- Exp4 – 2da. FdeS – No sombreado

- NIL 1
- NIL 2
- NIL 3
- NIL 4
- NIL 5
- NIL 6
- NIL 7
- NIL 8
- Genotipo comercial DM4670
- ◇— Genotipo comercial DM4970
- △— Genotipo comercial NA5009
- Genotipo comercial NA5509

- Dato del tallo principal
- × Dato de los Capítulos 2 ó 3

RESUMEN

Mecanismos asociados a la producción de granos en soja frente a cambios en el fotoperíodo en post-floración

La producción de granos en soja depende, al menos en parte, del fotoperíodo explorado durante post-floración. Este efecto fotoperiódico ha sido vinculado a los cambios en la duración de la oferta de recursos (efecto *indirecto*) ya que el fotoperíodo modifica la duración de la etapa post-floración. Sin embargo, los cambios en el fotoperíodo también alteran la morfología y el desarrollo de las plantas de soja pudiendo afectar directamente la producción de granos, además de los cambios mencionados en la oferta de recursos. Este tipo de efectos fotoperiódicos *directos* permitirían hacer un uso más eficiente de los recursos para producir granos. En este marco, el objetivo de esta tesis es estudiar los mecanismos asociados a la producción de granos en soja frente a cambios en el fotoperíodo en post-floración.

Se realizaron dos experimentos a campo con tratamientos de extensión artificial del fotoperíodo para identificar los mecanismos fotoperiódicos involucrados en la producción de granos a nivel de cultivo y a nivel de nudo, en un genotipo comercial de soja. A su vez, se incluyeron tratamientos de sombreado (distintos niveles de radiación incidente) para discriminar cuáles de dichos mecanismos fotoperiódicos están mediados por cambios en la oferta de radiación (indirectos) y cuáles son efectos del fotoperíodo *per se* (directos). Además, se realizaron otros dos experimentos utilizando líneas casi-isogénicas y genotipos comerciales con distinta sensibilidad fotoperiódica para analizar la variabilidad genotípica para los mecanismos fotoperiódicos involucrados en la producción de granos.

La extensión del fotoperíodo aumentó la producción de granos a nivel de cultivo a través de cambios en la oferta de recursos (efectos indirectos). Sin embargo, también se observaron efectos directos del fotoperíodo sobre la producción de granos mediante la modificación de la producción de nudos. La extensión del fotoperíodo distribuyó espacialmente los destinos, lo cual permitiría hacer un uso más eficiente de los recursos al reducir la interferencia entre vainas que crecen en un mismo nudo. Asimismo, se encontró variabilidad genotípica para este mecanismo fotoperiódico directo.

A nivel de nudo, la extensión del fotoperíodo retrasó el inicio de la elongación de vainas dominantes y permitió que se extendiese la floración, abriesen más flores y estableciesen más vainas en posiciones normalmente dominadas del nudo. Este efecto fotoperiódico también distendió la interferencia entre vainas que crecen en un mismo nudo a través cambios en la distribución temporal de los destinos. Sin embargo, no se encontró variabilidad genotípica para este mecanismo fotoperiódico bajo condiciones de fotoperíodo natural.

Los resultados obtenidos revelan mecanismos asociados a la producción de granos en soja frente a cambios en el fotoperíodo en post-floración que son independientes del aumento de la oferta de recursos. Dichos mecanismos involucran efectos fotoperiódicos directos sobre las relaciones intra-nodales entre vainas, mediados por el efecto del fotoperíodo sobre la producción de nudos y la tasa de desarrollo de las vainas.

Palabras claves: soja, *Glycine max*, fotoperíodo, radiación, rendimiento, granos, vainas, nudos, flores, desarrollo, variabilidad genotípica.

*ABSTRACT***Ecophysiological mechanisms responsible for soybean seed production response to post-flowering photoperiod**

Soybean seed production is affected by post-flowering photoperiod. This photoperiodic effect has been linked to changes in the availability of resources (*indirect* effect) because photoperiod affects the duration of the post-flowering phase. However, photoperiod may also affect seed production through its effects on plant morphology and development (which are independent of resource availability). These *direct* effects may enhance the efficiency of seed production. In this context, the objective of this thesis is to study the mechanisms responsible for soybean seed production response to post-flowering photoperiod.

Two experiments were conducted to identify the photoperiodic mechanisms involved in soybean seed production at the crop and at the individual node level using a commercial genotype grown under field conditions with artificially extended photoperiod treatments. Shading treatments (different levels of incident radiation) were also applied to determinate whether the identified mechanisms were linked to changes in the availability of radiation (*indirect*) or were *direct* photoperiodic effects. Two other field-experiments using near isogenic lines and commercial genotypes with different photoperiodic sensitivity were performed to analyze the genotypic variability of the photoperiodic mechanisms involved in soybean seed production.

Photoperiod extension increased soybean seed production at the crop level through changes in the availability of radiation (indirect effect). However, direct photoperiodic effects on seed production were also observed, which were mediated by changes in node production. Photoperiod extension spatially dispersed the sinks (pods) in different nodes, which would allow a more efficient use of the available resources by reducing the interference between pods growing at the same node. Additionally, genotypic variability was found for this direct photoperiodic mechanism.

At the node level, photoperiod extension delayed the elongation of the dominant pods and prolonged flowering, increased flower opening and pod set at usually dominated positions within the node. This photoperiodic effect also reduced the interference between pods growing at the same node through the temporal separation of sinks' demand. However, no genotypic variability was found for this photoperiodic mechanism under natural photoperiod.

These results reveal ecophysiological mechanisms responsible for soybean seed production response to post-flowering photoperiod, which are independent of resource availability. These mechanisms involve direct photoperiodic effects on intra-node pod interferences which are mediated by photoperiodic effects on node production and pod development.

Keywords: soybean, *Glycine max*, photoperiod, radiation, yield, seeds, pods, nodes, flowers, development, genotypic variability.

CAPÍTULO 1

1. Introducción general

1.1. Planteo del problema

Argentina es el tercer productor de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) a nivel mundial (con el 18% de la producción), y es el tercer exportador de grano y el primer exportador de aceite y harina de soja (SIIA, 2015). La soja es el cultivo de mayor relevancia en el país, y representa más del 60% de su superficie agrícola (más de 19 millones de hectáreas) con un rendimiento promedio a nivel nacional de 2,6 toneladas por hectárea en los últimos 5 años (campañas 2009/10-2013/14) (SIIA, 2015).

El rendimiento promedio del cultivo de soja en nuestro país, desde 1990 hasta 2014, mantiene una tendencia creciente (28,1 kg ha⁻¹ año⁻¹) debido a la incorporación de nuevas tecnologías asociadas al mejoramiento genético y prácticas agronómicas (SIIA, 2015). Sin embargo, los incrementos en la producción de los últimos 15 años (1,89 millones tn año⁻¹) se deben principalmente a incrementos en la superficie cultivada (670.643 ha año⁻¹). El cultivo de soja ocupa tierras anteriormente dedicadas a la ganadería u otros cultivos, o incluso ecosistemas naturales (Di Paola, 2005). Este proceso, junto con cambios en el marco económico, el régimen de precipitaciones y el manejo tecnológico produjeron el corrimiento de la frontera agropecuaria. Sin embargo, la sustentabilidad de este corrimiento ha sido, y continúa siendo, profundamente cuestionada (Paruelo y Guerschman, 2005; Viglizzo *et al.*, 2011). Esto sugiere que futuros aumentos en la producción no deberían estar ligados a la expansión del área cultivada, sino al aumento de la producción por unidad de área.

Una de las posibles vías de aumento de la producción consiste en desarrollar innovaciones tecnológicas que permitan aumentar el rendimiento potencial del cultivo, *i. e.* el rendimiento logrado en ausencia de limitaciones nutricionales, hídricas y sanitarias (Specht *et al.*, 1999). El mejoramiento tradicional, a través de la selección de genotipos de mayor rendimiento obtenidos mediante técnicas empíricas, es una de las alternativas utilizadas más frecuentemente para desarrollar mejores genotipos. Sin embargo, el conocimiento y utilización de las bases ecofisiológicas y genéticas que determinan el rendimiento potencial del cultivo, permitirían una mayor eficiencia en la obtención de nuevos cultivares asistiendo los programas de mejoramiento tradicional (Andrade *et al.*, 2009; Foulkes *et al.*, 2009).

Las propuestas más exploradas para incrementar el rendimiento potencial en los cultivos han sido:

- Aumentar la disponibilidad diaria de recursos (principalmente radiación) a través de mejoras en la capacidad de captación y utilización de los mismos durante la etapa crítica (Slafer *et al.*, 1996; Specht *et al.*, 1999); y/o prolongar su duración a expensas de la etapa vegetativa (Kantolic, 2006; Kantolic y Slafer, 2007; Miralles y Slafer, 2007).
- Promover una mayor partición de asimilados hacia los órganos reproductivos en crecimiento (Kumudini *et al.*, 2001; Reynolds *et al.*, 2009; Slafer *et al.*, 1996).

Existen también otras alternativas que han sido menos exploradas en la literatura pero pueden resultar muy exitosas para aumentar el número de granos, como por ejemplo:

- Disminuir el requerimiento de fotoasimilados necesario para lograr el cuaje de un fruto (Reynolds *et al.*, 2009; Vega *et al.*, 2001a).
- Distender las relaciones inhibitorias entre frutos (Egli y Bruening, 2002a).

1.2. Revisión de antecedentes

1.2.1. Componentes del rendimiento

El rendimiento del cultivo de soja puede definirse en términos de la biomasa producida por el cultivo y el índice de cosecha (proporción de la biomasa producida acumulada en los órganos cosechados). En general, el rendimiento logrado es mejor explicado por cambios en la biomasa producida que en el índice de cosecha. Desde otro enfoque, el número de granos por unidad de área es el principal componente del rendimiento, como sucede en la gran mayoría de los cultivos de grano. En la Figura 1.1, se muestra la conformación del rendimiento a partir de sus componentes numéricos.

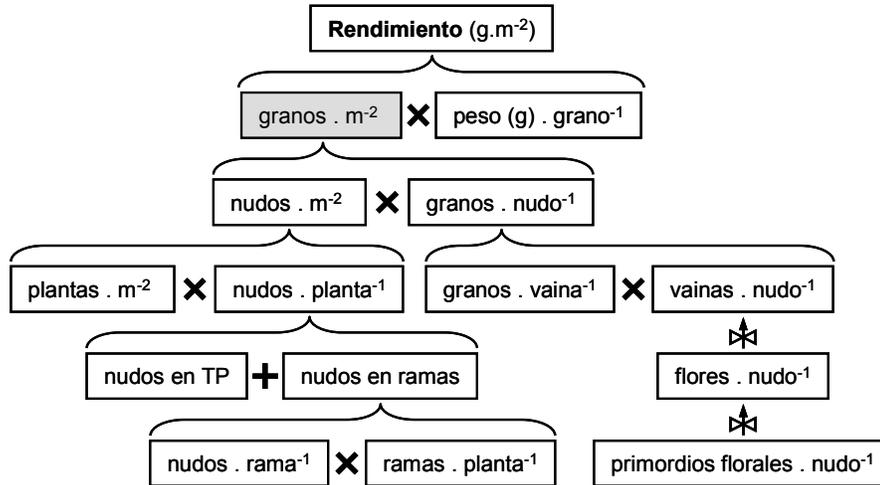


Figura 1.1. Componentes numéricos del rendimiento en el cultivo de soja. Las flechas representan el desarrollo de órganos florales.

Algunos de estos subcomponentes son poco variables (*e. g.* granos.vaina⁻¹) y otros muestran gran compensación entre sí (*e. g.* plantas.m⁻² y nudos.planta⁻¹). Estos subcomponentes se definen en distintas etapas a lo largo de todo el ciclo del cultivo, con distinto grado de simultaneidad (Figura 1.2), respondiendo a los factores del ambiente que afectan cada una de estas etapas. Dicha simultaneidad es mayor en genotipos de hábito de crecimiento indeterminado en comparación con los determinados (Kantolic *et al.*, 2003). Los indeterminados son aquellos en los cuales la aparición de nudos en el tallo principal continúa por varios días luego de comenzada la floración y generalmente no presentan un racimo apical. La superposición de las etapas de desarrollo, que implica que en el mismo momento se estén definiendo varios componentes, puede provocar compensaciones numéricas entre dichos componentes (Slafer *et al.*, 2009); sin embargo, el análisis por separado de cada componente puede permitir identificar mecanismos claves para la definición del rendimiento bajo distintas condiciones.

El número de granos por unidad de superficie, presenta una elevada sensibilidad a los factores del ambiente que limitan la disponibilidad de fotoasimilados durante una fase particular del ciclo, denominada período crítico (Egli, 1998). En soja, este período se concentra en estadios posteriores al inicio de floración y abarca la fructificación y estados iniciales del crecimiento de granos (Jiang y Egli, 1995).

El peso individual de los granos, el otro componente del rendimiento, presenta alta variabilidad en soja, comparado con otros cultivos de grano. El cultivo de soja presenta un alto grado de co-limitación por fuente y destinos (Borrás *et al.*, 2004; Egli *et al.*, 1985), ya que el peso individual de los granos responde marcadamente a modificaciones en la disponibilidad de recursos por grano. Una semilla puede llegar a duplicar o reducir

a la mitad su peso ante alteraciones de la disponibilidad de fuente durante el llenado efectivo, señalando que el peso potencial se define tardíamente y que rara vez se alcanza en condiciones normales de producción (Borrás *et al.*, 2004).

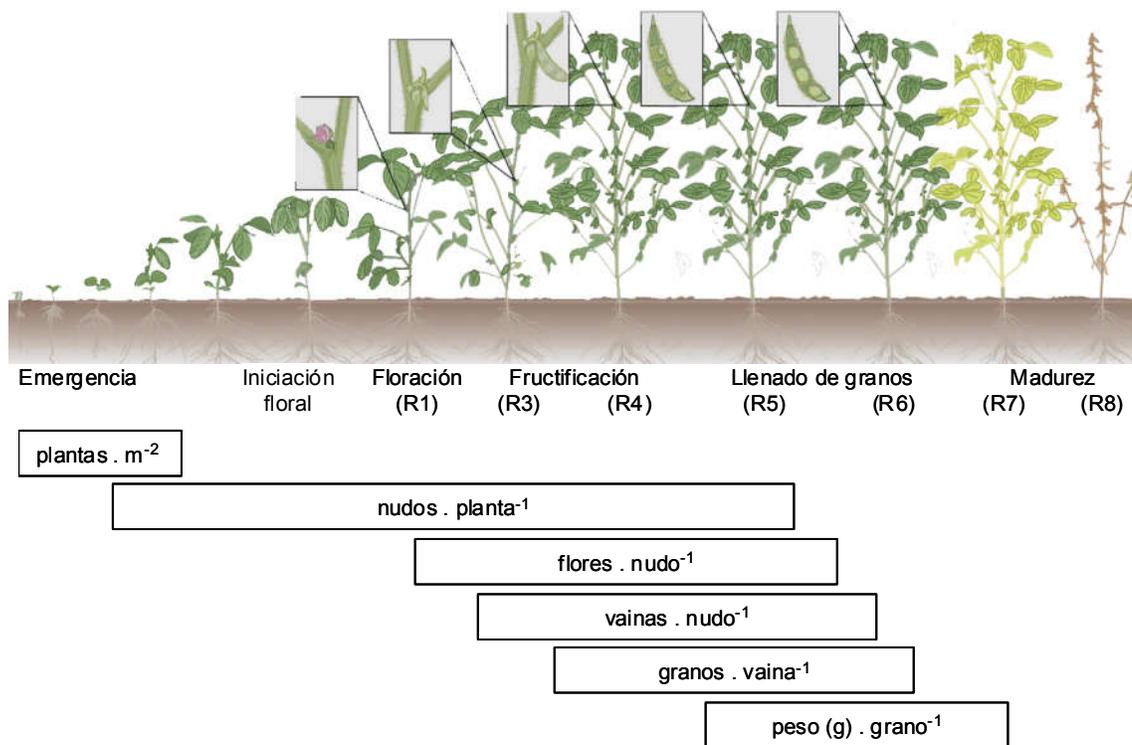


Figura 1.2. Definición temporal de los componentes numéricos del rendimiento a lo largo del ciclo ontogénico del cultivo de soja. Ubicación de las etapas reproductivas de la escala de Fehr y Caviness (1977). Ilustración modificada a partir de Greenberg (2004).

1.2.2. Morfología reproductiva de *Glycine max*

Cada nudo de la planta de soja cuenta con tres yemas: la central que corresponde a la hoja trifoliada y dos laterales que corresponden a las estípulas. Cada yema puede dar origen a un vástago vegetativo (rama) o una inflorescencia (racimo), por lo cual suelen coexistir ramas y racimos en los nudos de la parte basal de las plantas.

En la planta, la diferenciación de flores comienza en la yema axilar de una hoja y progresa hacia el ápice. En un nudo, la diferenciación comienza en la base de un racimo primario (formado a partir de la yema central) y progresa acrópetamente dentro del racimo. Los racimos laterales se desarrollan más tardíamente a partir de las yemas de las estípulas. No todos los primordios diferenciados completan su desarrollo y muchos de ellos no llegan a transformarse en flores visibles (Saitoh *et al.*, 1999b). La floración progresa, generalmente, en el mismo sentido que la diferenciación, es decir, acrópetamente dentro del racimo y los tallos. Cada racimo tiene comúnmente entre 3 y 10 flores, pudiendo llegar a tener hasta 35 flores (Carlson y Lersten, 2004). La mayoría de estas flores, sin embargo, no darán origen a un fruto (Wiebold, 1990).

El fruto de la soja es una legumbre o vaina, que generalmente posee entre 2 y 4 semillas. En general, el desarrollo temprano de un fruto puede dividirse en tres fases (Gillaspy *et al.*, 1993): en la primera etapa ocurre la fecundación y comienza el desarrollo del ovario, en la segunda fase hay una activa división celular, se forman las semillas y comienza a desarrollarse el embrión; y en la última fase crecen y maduran los

embriones mientras continúa el crecimiento del fruto debido, principalmente, a la expansión celular. En soja, la fase de división celular, o fase *lag* de vainas, es relativamente prolongada en relación a otras leguminosas de interés agrícola (Zheng *et al.*, 2003). A su vez, es variable dentro de la planta, ya que las vainas provenientes de las flores que florecen primero tienen una fase *lag* de vainas mayor que las que florecen más tarde. La regulación del inicio de la elongación de las vainas posibilita la sincronización del crecimiento de frutos de distintas edades dentro de toda la planta (Saitoh *et al.*, 1998b). En términos generales, los genotipos de ciclo más largo presentan una fase *lag* de vainas más larga que los genotipos de ciclo más corto, aunque estas diferencias no se traducen en la tasa de elongación de los frutos (Zheng *et al.*, 2003). La fase *lag* de vainas es variable entre fechas de siembra, genotipos y posiciones dentro de la planta, pero no ante aumentos importantes de la relación fuente-destino (Zheng *et al.*, 2003).

Durante la fase *lag* de vainas e, incluso, durante gran parte del período de elongación de vainas, no se producen aumentos perceptibles en el crecimiento de las semillas. Se ha propuesto que la separación temporal de la fructificación (crecimiento del pericarpo) y el llenado de las semillas, debería minimizar la competencia por fotoasimilados entre vainas en crecimiento (con altas posibilidades de abortar), y semillas creciendo rápidamente. De este modo, dicha separación temporal ayudaría a maximizar el número de vainas a un dado nivel de fotosíntesis (Egli y Bruening, 2006a).

Los granos o semillas maduras de soja carecen de endosperma y poseen cotiledones grandes y ricos en proteína (37-50 %) y aceite (13-24 %) (Carlson y Lersten, 2004). El peso de los granos es el componente numérico del rendimiento que se define último, y es el resultado de la duración del llenado y la tasa de acumulación de materia seca en el embrión. Al igual que ocurre con los frutos, la dinámica de llenado de cualquier grano puede dividirse en tres etapas (Egli, 1998). La primera etapa se denomina fase “*lag*” de semillas y en ella se produce una rápida división celular y desarrollo de tejidos; el peso del grano se incrementa muy levemente. La segunda etapa se denomina de crecimiento lineal o llenado efectivo, hay una activa acumulación de biomasa (hidratos de carbono, lípidos y proteína) en los granos. En varias leguminosas, incluyendo la soja, se ha encontrado que la tasa de crecimiento de las semillas durante esta segunda fase está positivamente asociada con el número de células de los cotiledones, diferenciados durante la primera etapa (Egli *et al.*, 1981; Egli *et al.*, 1989; Munier-Jolain y Ney, 1998). El contenido neto de agua de las semillas aumenta desde las etapas tempranas hasta más allá de la mitad de llenado, estando el máximo contenido de agua asociado al peso potencial de las semillas (Egli, 1998). Simultáneamente, a lo largo del período efectivo de llenado, la acumulación progresiva de materia seca en las semillas disminuye el porcentaje de humedad a una tasa relativamente constante hasta madurez fisiológica (55-60% de humedad) (Fraser *et al.*, 1982; Swank *et al.*, 1987). Trabajos *in vitro* de Egli (1990) indican que la acumulación de materia seca en semillas de soja continúa sólo si hay un ingreso neto de agua que permita la expansión celular y el transporte de asimilados; de lo contrario provoca la desecación de las semillas que dispara su maduración. En la tercera etapa de crecimiento de los granos, cesa la acumulación de biomasa y se alcanza la madurez fisiológica; a partir de ese momento, las semillas pierden humedad a un ritmo dependiente de las condiciones ambientales.

1.2.3. ¿Cómo se genera el número de granos en el cultivo de soja?

Durante el período crítico de soja se define qué proporción de los destinos potenciales se fijan. La tasa de aborto puede variar entre 36 y 81 % (Hansen y Shibles, 1978; Jiang y Egli, 1993; van Schaik y Probst, 1958), según los recursos disponibles. La

regulación del número final de destinos puede darse a nivel del desarrollo de primordios, aparición de flores, cuaje de frutos o aborto de granos. Si bien pueden abortar órganos reproductivos en cualquier estado de desarrollo, se ha sugerido que cuando las vainas alcanzan su máxima longitud y las semillas ya están en la fase lineal de crecimiento es poco probable que aborten (Duthion y Pigeaire, 1991; Egli, 1998; Westgate y Peterson, 1993). Por lo tanto, cuando comienza el llenado efectivo de granos a nivel de planta entera (estado R5-R6 de la escala ontogénica de (Fehr y Caviness, 1977) se define el número de vainas que llegarán a madurez (Egli y Bruening, 2006a).

De acuerdo al modelo propuesto por Charles-Edwards *et al.* (1986) el número potencial de granos por unidad de área depende de la fotosíntesis diaria del canopeo, la proporción de la fotosíntesis diaria particionada a órganos reproductivos, y el flujo mínimo de fotoasimilados necesario para sostener un grano potencial. Tal como señalan Egli y Yu (1991) y Egli (2005), este modelo no considera posibles efectos de los destinos sobre la actividad de la fuente ni los aspectos dinámicos de la fijación del número de granos. Incorporar estos aspectos a un modelo sencillo, pueden mejorar la predicción del número de vainas que se fijan en una planta (Egli, 2015).

El destino final de una flor particular, depende de su momento de aparición y posición en la planta, en el nudo y dentro del racimo. La interacción entre órganos que crecen en un mismo nudo es mucho mayor que la interferencia entre órganos de diferentes nudos (Heitholt *et al.*, 1986a). Tiempo y espacio, variables muy relacionadas, definen la jerarquía de un órgano y el tiempo disponible para su desarrollo y crecimiento (Egli, 2010b). Trabajos de Heitholt (1986a) y Egli y Bruening (2002b) indican que el 90% de las flores tardías abortan, posiblemente porque no llegan o llegan más tarde al “umbral de fijación” y por lo tanto tienen mayores probabilidades de abortar; sin embargo no queda claro cuál es el tipo de interacción entre órganos de distinta jerarquía que determina el destino final de las flores iniciadas.

Existe una sólida relación entre el crecimiento del cultivo de soja durante la fructificación y la producción de vainas (Board *et al.*, 1995; Vega *et al.*, 2001b). Sin embargo, los cambios metabólicos y anatómicos vinculados al aborto de una vaina se evidencian en etapas muy tempranas de su desarrollo (*i. e.* 2 a 5 días post floración; Abernethy *et al.*, 1977; Dybing *et al.*, 1986). En esta etapa los requerimientos de asimilados de una vaina son aún muy bajos en comparación con el crecimiento del cultivo (Brun y Betts, 1984; Heitholt *et al.*, 1986b), lo cual señala la existencia de señales no competitivas en el aborto de vainas. A partir de trabajos de raleo (Brun y Betts, 1984; Heitholt *et al.*, 1986a; Huff y Dybing, 1980), se ha sugerido que dentro de un racimo, las flores basales que aparecen primero inhiben el desarrollo de las más distales.

De acuerdo a lo anterior, queda claro que el número de vainas y granos no es una simple función de la disponibilidad de asimilados, como fue hipotetizado anteriormente (Egli, 1998), sino que depende, también, de la distribución temporal de la producción de flores (Egli, 2005). Algunos trabajos sugieren que cuando existen buenas condiciones de crecimiento, el número final de vainas por planta estaría más relacionado con la producción de nudos por planta y flores por nudo, que con el porcentaje de aborto de flores y vainas (Egli, 2005) o la disponibilidad de asimilados (Egli y Bruening, 2006a).

El número de flores producidas, depende de la duración del período de floración, que finaliza aproximadamente con el inicio del llenado efectivo de los granos. La duración de la floración no varía ante alteraciones de la disponibilidad de recursos, tales como el enriquecimiento con CO₂ (Dybing, 1994), la densidad de cultivo o la fertilización nitrogenada (Torigoe *et al.*, 1982). Sin embargo, dicho período depende del

genotipo (Foley *et al.*, 1986; Yoshida *et al.*, 1983), del fotoperíodo (Guiamet y Nakayama, 1984a; Summerfield *et al.*, 1998) y de la fecha de siembra (Dybing, 1994). Del mismo modo, Egli y Bruening (2006a) encontraron que la duración y forma del perfil de producción y supervivencia de vainas no varía sensiblemente con factores ambientales que influyen la productividad individual de las plantas (*e. g.* densidad de cultivo), pero sí a otros factores como la fecha de siembra y, posiblemente, el fotoperíodo.

A pesar de la importancia de la duración de las fases reproductivas sobre el número de flores, no siempre existe una relación directa entre la longitud de la floración y el número de granos logrados (Hanson, 1985, , 1992). La floración sincrónica (*i. e.* corto período de fijación de frutos y semillas) aumentó el número de granos en nudos aislados en plantas de soja (Egli y Bruening, 2002b) y maíz (Cárcova *et al.*, 2000). La mayor producción de granos en condiciones de sincronía se debería a la disminución de la variabilidad etaria entre frutos, eliminando la inhibición de frutos dominantes sobre dominados. Sin embargo, también existen trabajos que demuestran que períodos de floración y fijación de granos prolongados (donde se observa menor sincronía) aumentan el número de granos en soja (Bruening y Egli, 2000; Kantolic y Slafer, 2001) y trigo (Fischer, 1985). Se ha propuesto que en estos casos, el aumento se debería a una mayor captura de recursos. Un mayor crecimiento durante el período crítico, a su vez, permitiría un mayor crecimiento de los órganos que contienen las estructuras reproductivas (*e. g.* racimos, espigas) y por lo tanto una mayor cantidad de órganos logran fijarse.

1.2.4. Respuesta fotoperiódica

Al igual que muchas otras plantas, la soja es capaz de percibir los cambios estacionales del fotoperíodo (cantidad de horas de luz por día) y modificar su desarrollo en respuesta al mismo. Este proceso ocurre desde el fin de la fase juvenil (Hartwig y Kiihl, 1979; Shanmugasundaram y Tsou, 1978) hasta la madurez fisiológica del cultivo (Thomas y Raper, 1976). Dado que la duración del día tiene un patrón predecible para una determinada fecha y latitud (Figura 1.3), la sensibilidad al fotoperíodo (cambio en la duración de una etapa antes cambios en el fotoperíodo) permite ajustar la ocurrencia de etapas reproductivas en momentos favorables. Este carácter ha sido seleccionado naturalmente e introducido en los programas de mejoramiento para distintos ambientes obteniéndose cultivares adaptados a distintas latitudes. Según la respuesta del tiempo a floración, la soja se clasifica como especie de día corto con respuesta cuantitativa (Garner y Allard, 1920) (Figura 1.3). Dicha respuesta se mantiene durante todo el ciclo, de modo que fotoperíodos mayores a un umbral retrasan la iniciación floral, floración, fructificación y el inicio y fin del llenado efectivo de granos (Caffaro y Nakayama, 1988; Fleming *et al.*, 1997; Thomas y Raper, 1976; Thomas y Kanchanapoom, 1991); condicionando la duración de las diferentes etapas del ciclo y la tasa con que progresan los cambios dentro de las plantas (Borthwick y Parker, 1938; Hadley *et al.*, 1984; Upadhyay *et al.*, 1994; Zhang *et al.*, 2001). Tanto el valor de fotoperíodo umbral como la sensibilidad fotoperiódica presentan considerable variabilidad genotípica. Los genotipos que presentan una respuesta similar al fotoperíodo durante la fase emergencia-floración se agrupan en 13 grupos de madurez de menor (grupo 000) a mayor (grupo X) sensibilidad fotoperiódica (Whigham y Minor, 1978).

El hecho de que la sensibilidad al fotoperíodo continúe aún después de floración ha permitido explorar la importancia de la respuesta fotoperiódica sobre los procesos que ocurren en el período crítico. La exposición artificial a fotoperíodos largos durante dicho período, prolonga su duración (Guiamet y Nakayama, 1984b; Kantolic y Slafer,

2001; McBlain *et al.*, 1987; Summerfield *et al.*, 1998; Thomas y Raper, 1976) e incrementa el número de granos y el rendimiento (Kantolic y Slafer, 2005). Dicha prolongación se observa al exponer a días largos cualquier subfase del período crítico (Kantolic y Slafer, 2007). Además, existen evidencias que demuestran que el fotoperíodo explorado en una determinada subfase, puede condicionar la duración de las fases siguientes (Kantolic y Slafer, 2007). Esto demuestra la existencia de una percepción constante y continua del fotoperíodo durante el período crítico (Han y Wang, 1995) que impacta de manera directa sobre la capacidad del cultivo de generar y sostener granos (Kantolic, 2006). La respuesta observada en la ontogenia y la producción de granos es de tipo cuantitativa, tanto a la duración del fotoperíodo (en el rango de 14 a 19 horas, Kantolic y Slafer, 2005) como al número de ciclos (en el rango de 0 a 35 ciclos, Kantolic y Slafer, 2007).

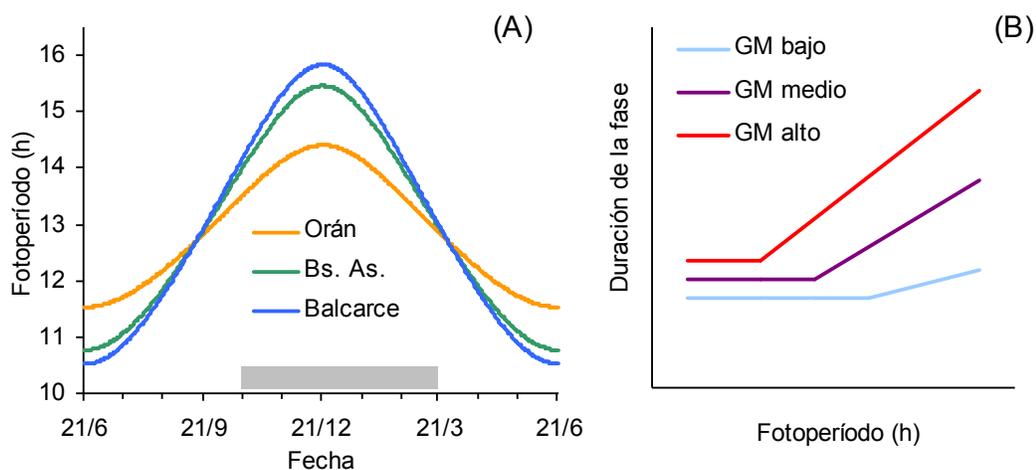


Figura 1.3. Marcha anual del fotoperíodo y respuesta fotoperiódica de soja. En (A), valor diario del fotoperíodo (incluyendo los crepúsculos) a lo largo del año en S. R. de la N. Orán, Salta (23°08'S 64°20'O); el campo experimental de la FAUBA, Buenos Aires (34°35'S 58°29'O) y Balcarce, Buenos Aires (37°49'S 58°15'O). La barra gris representa la ubicación aproximada del ciclo de cultivo de una soja de GM V sembrada en Buenos Aires. En (B), duración de la fase (*e. g.* emergencia-floración) expresada a temperatura constante en función del fotoperíodo medio explorado durante dicha fase para genotipos de distinto grupo de madurez (GM).

La mayoría de los estudios de respuesta fotoperiódica del cultivo de soja en post-floración, han utilizado como aproximación la escala ontogénica de Fehr y Caviness (1977). Si bien esta escala define el estado de desarrollo reproductivo del cultivo, principalmente, en función del tamaño de los frutos ubicados en la porción superior del tallo, no permite describir el desarrollo de un mismo fruto a lo largo del tiempo. Por ejemplo, los estadios R3 (“inicio de fructificación”) y R4 (“plena fructificación”) definen la presencia de una vaina de 0,5 o 2 cm de largo, respectivamente, en uno de los últimos 4 nudos superiores del tallo principal. Dado que la aparición de nudos en plantas de soja indeterminadas prosigue hasta el estadio R5 (comienzo de llenado), difícilmente se registre cada uno de los estadios en la misma posición del tallo. Por lo tanto, un retraso en el desarrollo valorado con esta escala no permite discriminar los efectos fotoperiódicos sobre la tasa de desarrollo individual de cada fruto, de los probables efectos sobre la diferenciación y aparición de nudos. Dado que la interacción entre órganos que crecen en un mismo nudo es mucho mayor que la interferencia entre nudos (Heitholt *et al.*, 1986a), resulta interesante estudiar la respuesta fotoperiódica en este nivel de detalle, para entender lo que sucede a nivel de planta entera y cultivo.

En soja, el efecto de prolongar la duración del período crítico mediante extensiones del fotoperíodo es equivalente, en términos del número de vainas y granos generados por unidad de superficie, a incrementar la producción de asimilados en el cultivo durante dicho período (Kantolic y Slafer, 2001). Un gran cúmulo de evidencia ha mostrado la asociación que existe entre el crecimiento de cultivo en post-floración y el número de granos (Bruening y Egli, 1999; Bruening y Egli, 2000; Calviño *et al.*, 2003; Cooper, 2003; Cregan y Yaklich, 1986; Egli y Yu, 1991; Kantolic y Slafer, 2001; Kantolic y Slafer, 2005; Kumudini *et al.*, 2001). El alargamiento del fotoperíodo incrementa el crecimiento total del cultivo durante dicha etapa y, en consecuencia, aumenta el número final de granos establecidos (Kantolic y Slafer, 2001; Kantolic y Slafer, 2005). Este efecto fotoperiódico puede considerarse un efecto indirecto, ya que está mediado por cambios en la duración de la oferta de recursos, producto de la prolongación del período post-floración.

Sin embargo, los claros efectos que el fotoperíodo ejerce sobre el patrón de desarrollo reproductivo, sugieren que las diferencias en la oferta de recursos y el crecimiento del cultivo no son la única causa del aumento de vainas ante manipulaciones fotoperiódicas. Este incremento puede resultar de una serie de mecanismos secuenciales cuya importancia relativa aún no ha sido establecida. En este sentido, el fotoperíodo podría actuar promoviendo la diferenciación de nudos y primordios florales, así como la aparición de flores y/o el cuaje de vainas, logrando diferente impacto relativo en el aumento del rendimiento. Además, se desconoce si los cambios en la dinámica de aparición y crecimiento de órganos reproductivos frente a modificaciones del ambiente fotoperiódico están relacionados con cambios tempranos (diferenciación o supervivencia de primordios reproductivos) como los observados en trigo, donde algunas evidencias sugieren efectos *per se* de las señales fotoperiódicas sobre el establecimiento de órganos reproductivos (González *et al.*, 2005a). El fotoperíodo podría actuar como modulador de señales que definen la supervivencia de los órganos reproductivos. A su vez, el retraso en la entrada a la fase de crecimiento rápido de los granos bajo condiciones de fotoperíodo largo evidenciada en experimentos manipulativos (Kantolic y Slafer, 2004) podría alterar las interacciones entre órganos reproductivos de distinta jerarquía que crecen simultáneamente. Por lo tanto, surge como prioritario avanzar en la comprensión de los mecanismos tempranos de control del número de granos. Identificar la importancia relativa de cada uno de estos procesos y las eventuales compensaciones entre ellos, resulta clave para avanzar en la identificación y jerarquización de los mecanismos responsables del incremento final del número de granos asociado al fotoperíodo.

Si bien existen indicios de efectos directos del fotoperíodo en el crecimiento de los granos (Morandi *et al.*, 1988; Morandi *et al.*, 1990; Thomas y Raper, 1976), se desconocen los mecanismos mediante los cuales se ejerce este control. Frente a la evidencia anterior, podría esperarse que condiciones de día largo regulen la actividad mitótica en frutos y semillas de soja, alterando el número de células en los cotiledones al momento del inicio de la expansión celular y acumulación activa de materia seca. Estos efectos podrían ser análogos a los encontrados en trigo, donde fotoperíodos poco inductivos prolongan la duración de la fase de iniciación de espiguillas (desarrollo fásico) pero disminuyen la tasa de iniciación de espiguillas (desarrollo morfológico) (Rahman y Wilson, 1977). Lemontey *et al.* (2000) señalan que la duración de la fase de división celular en cotiledones de arveja y la tasa de actividad mitótica durante dicha etapa, tienen un control genético diferente; por lo tanto, podrían ser regulados diferencialmente por el fotoperíodo.

1.2.5. Control genético de la respuesta fotoperiódica en soja

La alteración artificial de la duración del día resulta exitosa y muy útil para analizar la respuesta fotoperiódica de los cultivos e identificar las bases ecofisiológicas que regulan estas respuestas. Sin embargo, la inclusión de los mecanismos vinculados a la sensibilidad fotoperiódica en programas de mejoramiento vegetal, sólo es posible mediante el desarrollo de genotipos que contengan diferentes combinaciones de los genes que regulan la duración de las etapas ontogénicas, y en especial de la etapa crítica para la definición del número de granos.

En este marco, se han mapeado distintos QTL (acrónimo del inglés *quantitative trait loci*) asociados al tiempo a floración y madurez (ver reseña de Watanabe *et al.*, 2012; Xia *et al.*, 2012a). Además, se conocen 9 *loci*, pertenecientes a la denominada serie *E*, que interactúan con el fotoperíodo en el control de la floración y la madurez (Bernard, 1971; Bonato y Vello, 1999; Buzzell, 1971; Buzzell y Voldeng, 1980; Cober y Voldeng, 2001; Cober *et al.*, 2010; Kong *et al.*, 2014; McBlain y Bernard, 1987). Existe aditividad y epistasis entre los alelos (Cober *et al.*, 1996b; Summerfield *et al.*, 1998), de modo que un mayor número de alelos *E* dominantes (para casi todos los *loci*) confiere mayor sensibilidad fotoperiódica.

En las colecciones de germoplasma del USDA y del Departamento de Agricultura de Canadá, se encuentran disponibles líneas casi-isogénicas (NIL, del inglés *Near Isogenic Lines*) de soja con combinaciones alélicas de la serie *E* en los fondos genéticos de Harosoy (grupo de madurez II) y Clark (grupo de madurez IV). La sensibilidad fotoperiódica post-floración de algunas de estas NIL ha sido estudiada en parcelas a campo. La mayoría de los estudios se ha centrado en la fenología y la duración de las subetapas reproductivas (Cober *et al.*, 1996b; Cober *et al.*, 2001; Kumudini *et al.*, 2007; McBlain *et al.*, 1987; Zhang *et al.*, 2001), pero algunos también han descrito efectos en aspectos agronómicos de las distintas NIL (Bellaloui *et al.*, 2009; Cober y Morrison, 2010; Curtis *et al.*, 2000; Ellis *et al.*, 2000; Pallikonda, 2006; Summerfield *et al.*, 1998; Wilcox *et al.*, 1995; Xu *et al.*, 2013). La utilización de estas NIL resulta una herramienta útil para poder relacionar los mecanismos que controlan el número de granos en respuesta al fotoperíodo con los alelos *E*.

El efecto de los alelos *E* sobre la duración de la etapa previa a la floración (Upadhyay *et al.*, 1994) puede ser relativamente diferente a su efecto en post-floración (Cober *et al.*, 1996b; McBlain *et al.*, 1987; Summerfield *et al.*, 1998). A su vez, se ha encontrado variabilidad en la sensibilidad fotoperiódica post-floración de genotipos comerciales de soja dentro de un mismo grupo de madurez (Kantolic y Slafer, 2001) y entre grupos de madurez (Kantolic y Slafer, 2005). Por lo tanto, sería posible retrasar la madurez en genotipos de floración temprana (grupos de madurez cortos), incrementando así la duración del período crítico, combinando los diferentes alelos de los genes que regulan la respuesta fotoperiódica del cultivo. Dado que la sensibilidad al fotoperíodo durante la etapa crítica: (i) se encuentra bajo el control de un reducido número de genes mayores (Cober y Voldeng, 2001; Tasma y Shoemaker, 2003), (ii) es parcialmente independiente de la sensibilidad en otras etapas ontogénicas del cultivo (Kantolic y Slafer, 2001), y (iii) presenta variabilidad genotípica en la respuesta del cultivo al fotoperíodo (Kantolic y Slafer, 2001; Kantolic y Slafer, 2005), se podría manipular la duración de la etapa crítica sin afectar la duración relativa de otras fases o manteniendo constante la duración total del ciclo.

1.3. Objetivos

Dado que bajo condiciones de día largo en post-floración se han registrado incrementos del rendimiento potencial del cultivo de soja y que el conocimiento de las bases ecofisiológicas y genéticas que determinan el rendimiento potencial del cultivo pueden resultar útiles en la obtención de nuevos cultivares (Andrade *et al.*, 2009; Foulkes *et al.*, 2009), el objetivo general de la tesis es:

- Estudiar los mecanismos asociados a la producción de granos en soja frente a cambios en el fotoperíodo en post-floración.

Para cumplimentar el objetivo general, se proponen los siguientes objetivos específicos:

- Identificar mecanismos mediante los cuales se genera un mayor rendimiento bajo condiciones de día largo en post-floración.
- Discriminar cuáles de dichos mecanismos, que incrementan el rendimiento ante prolongaciones en el fotoperíodo durante post-floración, pueden considerarse efectos fotoperiódicos directos y cuáles resultan de diferencias en la disponibilidad de recursos (efectos fotoperiódicos indirectos).
- Analizar la variabilidad genotípica en líneas casi isogénicas (NIL) y genotipos comerciales de soja liberados recientemente al mercado argentino, para aquellos mecanismos identificados en (i).

1.4. Hipótesis

Relacionadas con el objetivo (i):

- La exposición de cultivos de soja de hábito indeterminado a condiciones de día largo en post-floración aumenta el rendimiento porque:
 - aumenta la producción de biomasa por unidad de superficie sin modificar el índice de cosecha del cultivo.
 - aumenta la producción de nudos por unidad de superficie.
- La exposición de cultivos de soja de hábito indeterminado a condiciones de día largo en post-floración aumenta el número de granos por nudo porque:
 - se prolonga la floración en el nudo y aumenta el número de flores.
 - incrementa la proporción de flores que prosperan en vainas (cuaje).
- La exposición de cultivos de soja de hábito indeterminado a condiciones de día largo en post-floración disminuye el peso individual de los granos...
 - 3')§ ...pero no existe una compensación completa entre número y peso de granos, ya que fuente y destinos aumentan en paralelo.

Relacionadas con el objetivo (ii):

- La exposición de cultivos de soja de hábito indeterminado a condiciones de día largo en post-floración aumenta el rendimiento a través de su efecto indirecto sobre la producción de biomasa, resultado de la prolongación de la oferta de recursos.
- La exposición de cultivos de soja de hábito indeterminado a condiciones de día largo en post-floración aumenta el rendimiento a través de su efecto directo sobre la producción de nudos.

§ la hipótesis 3' se pondrá a prueba sólo si no se rechaza la hipótesis 3.

- (6) La exposición de cultivos de soja de hábito indeterminado a condiciones de día largo en post-floración aumenta el número de granos por nudo a través de su efecto directo porque:
 - (6.a) prolonga la floración y, por lo tanto, aumenta el número de flores por nudo.
 - (6.b) disminuye la interferencia entre órganos de distinta jerarquía que crecen en un mismo nudo, aumentando el cuaje de vainas.

Relacionada con el objetivo (iii):

- (7) Existe variabilidad genotípica para los mecanismos vinculados directa o indirectamente a la respuesta fotoperiódica post-floración identificados en el objetivo (i).
- (8) En aquellas NIL o genotipos comerciales de soja en las que están presentes dichos mecanismos (*i. e.* mayor duración de la etapa post-floración, mayor producción de nudos, flores y cuaje), el rendimiento logrado es mayor que en aquellos genotipos en los que dichos mecanismos no se expresan.
- (9) La magnitud de los efectos fotoperiódicos directos es mayor en las NIL o genotipos comerciales de soja con mayor sensibilidad fotoperiódica post-floración.

1.5. Estructura de la tesis

Para poner a prueba las hipótesis relacionadas con los objetivos (i) y (ii) se realizaron dos experimentos con manipulación artificial del fotoperíodo. Los resultados obtenidos a nivel de cultivo, orientados a estudiar los mecanismos fotoperiódicos directos e indirectos, se presentan en el Capítulo 2 (Hipótesis (1), (3), (4) y (5)). Los resultados obtenidos a nivel de nudo, orientados a dilucidar el efecto fotoperiódico sobre la interferencia entre vainas que crecen en un mismo nudo, se presentan en el Capítulo 3 (Hipótesis (2) y (6)). Los materiales y métodos generales empleados en los experimentos a campo se describen en la sección *ad hoc* del Capítulo 2, mientras que los materiales y métodos particulares de cada nivel de aproximación se describen en la sección *ad hoc* de cada capítulo.

Para poner a prueba las hipótesis relacionadas con el objetivo (iii) se realizaron otros dos experimentos utilizando genotipos con distinta sensibilidad al fotoperíodo. Los materiales y métodos y los resultados obtenidos a nivel de cultivo y nudo se presentan en el Capítulo 4 y se comparan con los obtenidos manipulando artificialmente el fotoperíodo de los Capítulos 2 y 3 (Hipótesis (7), (8) y (9)).

Finalmente, en el Capítulo 5 se presenta un esquema y la discusión general del trabajo (contraste de hipótesis, contribución al avance del conocimiento, aplicaciones de los resultados obtenidos, nuevos interrogantes y futuras líneas de investigación) y las conclusiones alcanzadas.

2. Interacción entre el fotoperíodo y la radiación en la determinación del rendimiento a nivel de cultivo: efectos fotoperiódicos directos e indirectos

2.1. Introducción

El efecto del fotoperíodo durante post-floración sobre el rendimiento del cultivo de soja y sus componentes está asociado a los cambios que produce el fotoperíodo sobre el desarrollo (Guiamet y Nakayama, 1984a; Summerfield *et al.*, 1998; Thomas y Raper, 1976). Los días largos retrasan el desarrollo reproductivo y la madurez fisiológica del cultivo, prolongando la etapa post-floración y la duración del período crítico. Se ha encontrado una relación positiva entre la duración del período crítico y el rendimiento (Dunphy *et al.*, 1979) o el número de granos por unidad de superficie (Egli y Bruening, 2000; Kantolic y Slafer, 2001; Kantolic y Slafer, 2005, , 2007). Aunque aún no se conocen con exactitud los mecanismos que controlan esta relación, se sabe que la exposición del cultivo a una oferta de radiación incidente más prolongada aumenta el crecimiento durante el período crítico, en el cual se están produciendo vainas y semillas (Kantolic y Slafer, 2005). Por lo tanto, el efecto fotoperiódico en post-floración sobre el rendimiento podría ser un efecto indirecto asociado exclusivamente al aumento de la radiación incidente acumulada producto de la prolongación de las etapas post-floración, siendo la radiación fotosintéticamente activa el factor ambiental directo que determina el rendimiento. Sin embargo, Egli y Bruening (2000) han sugerido que el beneficio de una etapa más prolongada no sería sólo la simple exposición del cultivo a mayores niveles de radiación, sino que tanto el crecimiento del cultivo como la duración de la etapa afectan el número de granos en forma independiente.

La combinación experimental de dos niveles de radiación y fotoperíodo en forma factorial ha aportado algunos elementos a la comparación simultánea de estas dos variables ambientales sobre el rendimiento de trigo (González *et al.*, 2005b) y, más recientemente, soja (Kantolic *et al.*, 2013). Kantolic *et al.* (2013) demostraron que el número de granos estuvo fuertemente relacionado con la radiación interceptada y acumulada durante el establecimiento de vainas (desde las etapas R3 a R6, Fehr y Caviness, 1977), independientemente del factor ambiental responsable del aumento de la radiación acumulada (radiación incidente diaria o duración de la oferta de radiación). Estos resultados sugieren que los días largos aumentaron el número de vainas y granos establecidos por unidad de superficie, principalmente a través del aumento de la oferta de recursos durante una etapa que es crítica para la determinación del rendimiento. Sin embargo, observaciones más detalladas revelaron que el efecto de la radiación y el fotoperíodo no fueron similares en todo el canopeo. La sombra redujo el número de vainas en todas las posiciones de las plantas, mientras que los días largos aumentaron las vainas por nudo sólo en los nudos que florecieron luego de la aplicación del tratamiento (Kantolic *et al.*, 2013). Los autores sugieren que los días largos no pudieron aumentar el establecimiento de vainas en los nudos que florecieron antes del inicio del tratamiento (bajo fotoperíodos más cortos) porque ya se habían establecido relaciones jerárquicas entre las vainas de dichos nudos. Esto resulta relevante, considerando que las interferencias entre vainas de distintas edades dentro de un mismo nudo son más

[§] Parte de los resultados de este capítulo han sido publicados en Nico, M; Miralles, DJ y Kantolic, AG. 2015. Post-flowering photoperiod and radiation interaction in soybean yield determination: Direct and indirect photoperiodic effects. *Field Crops Research* 176:45-55.

fuertes que las interacciones entre vainas producidas en diferentes nudos (Egli y Bruening, 2002a; Egli y Bruening, 2002b; Egli y Bruening, 2006a; Egli y Bruening, 2006b).

Al mismo tiempo, los días largos durante post-floración producen otros cambios en el desarrollo de las plantas que también podrían estar directamente relacionados con el aumento del rendimiento. Existe una relación positiva entre el número de vainas y nudos producidos (Egli, 2013), al menos dentro de un amplio rango en el que la compensación del número de vainas por nudo no es completa. Lo mismo ocurre con la relación positiva entre el número de vainas y flores (Egli, 2005; Jiang y Egli, 1993) y la eventual compensación del porcentaje de cuaje. La producción de flores depende de la duración de la floración, proceso que está bajo control fotoperiódico (Guamet y Nakayama, 1984a; Summerfield *et al.*, 1998) y es relativamente independiente de la disponibilidad de asimilados (Dybing, 1994). Además, la partición de biomasa hacia estructuras reproductivas también podría ser alterada por el fotoperíodo (Cure *et al.*, 1982; Raper y Thomas, 1978). Estos efectos, y posiblemente otros más, pueden considerarse “efectos directos” del fotoperíodo, ya que requieren la percepción y respuesta al fotoperíodo y son, al menos parcialmente, independientes de la disponibilidad de recursos (*e. g.* radiación fotosintéticamente activa).

Aquellos mecanismos que aumenten el rendimiento independientemente de la radiación acumulada, aumentarían la eficiencia con la que dicha radiación es utilizada para producir rendimiento. Por lo tanto, identificar dichos mecanismos y comprender su interacción con otros mecanismos determinantes del rendimiento es de gran interés para aumentar el rendimiento del cultivo. Ya que la sensibilidad fotoperiódica del cultivo de soja está bajo control de un número de genes relativamente bajo (Cober *et al.*, 1996b; Summerfield *et al.*, 1998), mecanismos que aumenten el rendimiento vinculados a efectos fotoperiódicos directos podrían ser rasgos fáciles y rápidos de incluir en programas de mejora genética.

En este capítulo, se analizará en detalle el efecto de la extensión del fotoperíodo durante toda la etapa post-floración sobre la determinación del rendimiento bajo escenarios contrastantes de radiación. El objetivo es identificar los mecanismos responsables del aumento del rendimiento bajo días largos a nivel de cultivo, separando efectos fotoperiódicos indirectos (*i. e.* aquellos asociados con el aumento de la radiación acumulada producto de la prolongación de las etapas reproductivas) de los efectos directos (*i. e.* aquellos independientes del aumento de la radiación acumulada y relacionados con efectos del fotoperíodo sobre la estructura y funcionamiento del cultivo).

2.2. Materiales y métodos

2.2.1. Cultivo

Se realizaron dos experimentos bajo condiciones de campo en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (34°35'S, 58°29'O) durante la campaña 2008/09 (Exp1) y 2009/10 (Exp2). Las fechas de siembra fueron el 25 de enero de 2009 y 25 de octubre de 2009 en el Exp1 y Exp2, respectivamente. Se utilizó el genotipo comercial indeterminada NIDERA A 5009 RG (Nidera Argentina). Dicho genotipo es del grupo de madurez V corto y es el más sembrado en la región pampeana (3.191.750 ha y 19,87% del área cultivada en la campaña 2012/13, Kleffmann Group, 2013). Las semillas se trataron con inoculante líquido de *Bradyrhizobium* y se sembraron a muy alta densidad en parcelas a campo. Cuando las hojas unifoliadas estaban completamente expandidas (V1, Fehr y Caviness,

1977), las parcelas se ralearon a mano para obtener un cultivo uniforme de 40 plantas por m². Las parcelas consistieron en 6 surcos de 2,5 m de largo distanciados a 0,35 m entre sí. Las malezas, plagas y enfermedades se controlaron siguiendo prácticas agronómicas locales. Las precipitaciones fueron complementadas con riego por goteo. Las plantas fueron tutoradas para prevenir su vuelco cuando fue necesario.

2.2.2. Tratamientos

Los tratamientos consistieron en la combinación factorial de diferentes niveles de sombra y fotoperíodo aplicados desde el principio de floración (R1, según Fehr y Caviness, 1977) hasta la madurez fisiológica del cultivo (R7). En ambos experimentos, los tratamientos de sombreado se realizaron aplicando redes comerciales de mediasombra (35% de reducción de radiación) sobre las parcelas para reducir la fotosíntesis del canopeo (llamados “sombreados” en el texto) (Figura 2.1). Las redes de mediasombra cambiaron la densidad de flujo de fotones sin cambiar la composición espectral de la luz en el rango de longitudes de onda correspondientes al rojo/rojo lejano (R:RL, medida con un sensor SKR 110 660/730, Skye Instruments Ltd.). Las parcelas control se mantuvieron durante todo el ciclo sin las redes (“No sombreados”). En el Exp1, se aplicaron dos niveles de fotoperíodo: las parcelas fueron (i) mantenidas bajo fotoperíodo natural (“control”) o (ii) expuestas a un fotoperíodo extendido artificialmente 3 h respecto al fotoperíodo natural (“3 h”) (Kantolic y Slafer, 2001). En el Exp2, se agregó un nivel intermedio de extensión del fotoperíodo de 1,5 h respecto al fotoperíodo natural (“1,5 h”). Este tratamiento intermedio se agregó porque los fotoperíodos muy largos pueden saturar algunas respuestas (Kantolic y Slafer, 2005) y el fotoperíodo natural del Exp2 era de por sí bastante largo porque la fecha de siembra fue más temprana que en el Exp1. Para extender el fotoperíodo en el campo se utilizaron luminarias portátiles (Figura 2.1). Cada luminaria contaba con un tubo fluorescente y dos lámparas incandescentes que proveían un flujo de fotones (400–700 nm) muy bajo: 4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (medido sobre el canopeo con un sensor quantum LI-COR Inc.) y una relación rojo-rojo lejano de 1,17 (medida con un sensor SKR 110 660/730, Skye Instruments Ltd.). Las luces se encendían automáticamente antes del crepúsculo del



Figura 2.1. Vista diurna (30/12/09) y nocturna del Exp2 durante el momento de extensión artificial del fotoperíodo (el 22/12/09).

atardecer y se apagaban 1,5 o 3 h después de finalizado el crepúsculo según correspondiera de acuerdo al tratamiento de extensión del fotoperíodo. Las luminarias y redes de sombreo se mantuvieron siempre a 20-30 cm sobre el canopeo.

2.2.3. Recolección y análisis de datos

La radiación fotosintéticamente activa, diaria e incidente (iRFA) y la temperatura del aire media diaria fueron registradas en una estación meteorológica automática ubicada a 200 m del experimento (Vantage Pro2, Davis Instruments, California, USA). Semanalmente, al mediodía en días despejados, la radiación fotosintéticamente activa incidente y transmitida al nivel del suelo fueron medidas con un radiómetro lineal (Bar-Rad 100, Cavadevices, Buenos Aires, Argentina), ubicado perpendicular a los surcos, para estimar la proporción de iRFA interceptada por el canopeo. La radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada ($RFA_{\text{inicio-fin}}$) fue estimada como la suma de iRFA afectada por la proporción de radiación incidente interceptada por el canopeo cada día y los tratamientos de sombreo cuando correspondía.

El número de nudos con hojas expandidas en el tallo principal y el estado ontogénico fueron registrados cada 2 días cuando el 50% de las plantas de la parcela alcanzaron el estado descrito en la escala propuesta por Fehr y Caviness (1977). La duración de las etapas VE-R1 (emergencia a principios de floración), R1-R3 (floración a principios de fructificación) y R3-R7 (fructificación a madurez fisiológica) fue corregida por el efecto de la temperatura sobre el desarrollo de las plantas y expresado en días termales (dt) utilizando un modelo trilineal (Piper *et al.*, 1996). Las temperaturas cardinales utilizadas para cada etapa ontogénica fueron tomadas de Piper *et al.* (1996). La sensibilidad fotoperiódica fue estimada como la pendiente de la regresión lineal ajustada a la duración de una etapa (en días termales) en función del fotoperíodo promedio explorado durante dicha etapa. La tasa de aparición de hojas (inversa del filocrono) fue estimada como la pendiente de la regresión lineal ajustada al número de hojas expandidas en función del tiempo (en días termales).

La biomasa aérea fue muestreada a mano en R1, R3 y R6 (pleno llenado de granos) en 0,21 m² y en R7 en 0,35 m². Todas las mediciones y muestreos fueron realizados en dos de los cuatro surcos centrales de cada parcela dejando al menos 0,3 m de bordura entre zonas de muestreo y el borde de la parcela. Los pimpollos, flores, vainas y semillas fueron cortados de las plantas y secados separadamente. Las muestras se secaron a 60°C hasta que alcanzaron un peso constante por, al menos, 72 h antes de determinar su peso seco. Después de ser pesada, la muestra de madurez fisiológica fue trillada a mano y todas las semillas fueron pesadas para calcular el rendimiento del cultivo. El índice de cosecha se estimó como el cociente entre el rendimiento en grano y la biomasa total aérea en R7 (incluyendo la broza).

La partición fue estimada como el cociente entre la biomasa reproductiva (pimpollos, flores, vainas y semillas) y la biomasa aérea en R3, R6 y R7. El momento de inicio de la partición y la tasa de partición fueron estimados como la ordenada a la abscisa y la pendiente, respectivamente, de la recta de regresión ajustada a la partición en función del tiempo desde R1 (en días termales).

Para estimar el inicio y la tasa del llenado de granos y el momento de madurez fisiológica, se tomaron muestras 2 veces por semana desde el comienzo de la elongación de vainas hasta la madurez fisiológica. Se utilizó una planta distinta para cada día de muestreo. Se muestreó la primera vaina del racimo primario de tres nudos consecutivos localizados en una posición basal (donde comenzó la floración), central (cinco nudos por encima del nudo donde comenzó la floración) o apical del tallo principal de cada planta (los últimos tres nudos). La sección apical varió entre experimentos y

tratamientos según el número final de nudos producidos en el tallo principal. Los granos se secaron en estufa como se describió previamente y el peso individual de granos se calculó a partir del cociente entre el peso de todos los granos y la cantidad de granos dentro de cada posición del tallo. La tasa y duración del llenado de granos se estimó a partir de un modelo lineal con *plateau*:

$$\begin{aligned} PS &= 0 && \text{para } (t < t_0) \\ PS &= L \cdot (t - t_0) && \text{para } (t_0 < t < t_{MF}) \\ PS &= L \cdot (t_{MF} - t_0) && \text{para } (t > t_{MF}) \end{aligned}$$

donde PS es el peso seco del grano, t el tiempo desde R1 (en días termales), t_0 el inicio del llenado efectivo, L la tasa de llenado y t_{MF} la madurez fisiológica.[§]

La relación fuente/destino a nivel de cultivo se estimó en R6 como el cociente entre la biomasa vegetativa aérea (tallos y hojas) y el número de estructuras reproductivas (flores y vainas) por m². La fuente a nivel de nudo fue estimada como el cociente entre la RFA_{R1-R7} y el número de nudos por m². La eficiencia en el uso de la radiación para producir rendimiento ($EUR_{R,RFA}$) fue estimada como el cociente entre el rendimiento y la RFA_{R1-R7} .

El número de granos, vainas y nudos fue contado en el tallo principal y las ramas en las muestras de R3, R6 y R7. El peso individual de los granos, los granos por vaina y las vainas por nudo fueron calculados como el cociente entre el rendimiento y el número de granos, el número de granos y vainas y el número de vainas y nudos por m², respectivamente.

El efecto fotoperiódico total sobre el número de nudos por m² fue calculado como la diferencia entre el número de nudos por m² bajo fotoperíodo extendido menos el número de nudos por m² bajo fotoperíodo natural en cada tratamiento de radiación. El efecto fotoperiódico total fue separado en efectos fotoperiódicos directos e indirectos. Los efectos fotoperiódicos indirectos fueron considerados aquellos causados por el aumento de la radiación acumulada y fueron estimados usando un modelo lineal ajustado a los nudos por m² en función de la RFA_{VE-R6} (para las parcelas bajo fotoperíodo natural). Los efectos fotoperiódicos directos fueron considerados aquellos independientes de la radiación acumulada durante VE-R6 y fueron calculados como la diferencia entre el efecto fotoperiódico total e indirecto.

2.2.4. Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue en bloques completos al azar con 3 repeticiones. El efecto de los tratamientos y sus interacciones sobre las variables medidas y calculadas fue evaluado mediante análisis de varianza para cada experimento utilizando InfoStat Profesional v1.1 (Di Rienzo *et al.*, 2015). Las medias se compararon utilizando la prueba de Tukey con un nivel de significancia igual a $\alpha=0,05$. En el texto se presenta la media ± 1 error estándar. La relación entre variables fue analizada mediante análisis de regresión o correlación utilizando GraphPad Prism v5.01 (GraphPad Software, San Diego, USA). La media de los 3 bloques fue utilizada para los análisis de regresión y correlación. Para comparar las pendientes y ordenadas al origen entre los tratamientos se utilizó un modelo de regresión con variables auxiliares (*dummies*) utilizando contrastes ortogonales en InfoStat Profesional v1.1 (Di Rienzo *et al.*, 2015). Las ordenadas a la abscisa fueron comparadas mediante sus intervalos de confianza (95%)

[§] En el Exp2, los datos de peso seco individual de grano fueron tomados de la tesis de grado para optar al título de Ing. Agrónoma de la alumna Cecilia Guillén, con su consentimiento. Integro su comité consejero junto con la Dra. Kantolic. En su tesis (en curso), Guillén estudió el efecto del fotoperíodo y la radiación sobre la dinámica hídrica, la tasa de llenado y la definición del peso potencial de los granos de soja.

usando GraphPad Prism v5.01 (GraphPad Software, San Diego, USA). Para el llenado de granos se ajustó el siguiente modelo $[PS=L*(t-t_0)*(t>t_0)*(t<t_{MF})+L*(t_{MF}-t_0)*(t>t_{MF})]$ utilizando GraphPad Prism v5.01 (GraphPad Software, San Diego, USA) y se utilizó el intervalo de confianza (95%) para comparar los parámetros entre tratamientos.

2.3. Resultados

2.3.1. Condiciones ambientales

Como resultado de las fechas de siembra contrastantes entre experimentos, la temperatura media explorada por los tratamientos control durante la etapa vegetativa (VE-R1) en el Exp1 fue mayor (25,0 °C) que en el Exp2 (21,4 °C) mientras que la temperatura media durante la etapa reproductiva (R1-R7) tuvo la tendencia opuesta: 21,3 °C en el Exp1 y 24,6 °C en el Exp2. Dentro de cada experimento, como consecuencia de los efectos fotoperiódicos sobre el desarrollo del cultivo (ver sección 2.3.2), la temperatura media durante la etapa reproductiva fue menor cuando el fotoperíodo fue extendido en comparación con los tratamientos control: 19,1 °C (3 h Exp1), 24,1 °C (1,5 h Exp2) o 23,2 °C (3 h Exp2).

Cuadro 2.1. Condiciones ambientales durante el Exp1 y Exp2. Fotoperíodo promedio y radiación fotosintéticamente activa incidente diaria (iRFA) promedio explorada por el cultivo durante post-floración (R1-R7). Duración de la etapa post-floración expresada en días calendario (d) y días termales (dt).

	Fotoperíodo (h)	iRFA (MJ m ⁻² d ⁻¹)	Duración de la etapa post-floración	
			(d)	(dt)
Exp1				
No sombreado				
Control	12,4 b	4,1 a	63,0 b	57,3 b
3 h	15,0 a	3,4 b	92,3 a	80,2 a
Sombreado				
Control	12,4 b	2,5 c	64,3 b	58,5 b
3 h	14,9 a	2,0 d	96,7 a	83,5 a
Fotoperíodo	**	**	**	**
Radiación	ns	**	ns	ns
Fotoperíodo*Radiación	ns	ns	ns	ns
Exp2				
No sombreado				
Control	14,5 c	8,5 a	88,0 e	84,3 e
1,5 h	16,0 b	8,0 b	110,0 c	100,6 c
3 h	16,9 a	7,4 c	123,0 b	114,7 b
Sombreado				
Control	14,4 c	5,1 d	92,0 d	88,1 d
1,5 h	15,7 b	4,8 d	106,0 c	100,3 c
3 h	16,8 a	4,3 e	131,0 a	121,1 a
Fotoperíodo	**	**	**	**
Radiación	ns	**	**	**
Fotoperíodo*Radiación	ns	ns	**	**

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre medias ($p<0,05$) de acuerdo al test de Tukey dentro de cada experimento. No significativo (ns), $p<0,01$ (**).

La combinación de distintas fechas de siembra y tratamientos dio como resultado la exploración de un rango amplio de fotoperíodo (12,4 a 16,9 h) y radiación incidente durante R1-R7 (Cuadro 2.1). En los tratamientos control, el fotoperíodo medio durante la etapa post-floración fue menor en el Exp1 comparado con el Exp2, por lo tanto el tratamiento extendido 3 h del Exp1 exploró un fotoperíodo promedio similar al tratamiento de fotoperíodo control del Exp2. La radiación incidente diaria promedio durante etapas reproductivas fue menor en el Exp1 en comparación con el Exp2 y por lo tanto los tratamientos sombreados del Exp2 recibieron niveles de radiación similares a los tratamientos no sombreados del Exp1.

2.3.2. Desarrollo del cultivo

La duración de la etapa vegetativa (VE-R1), —anterior al inicio de los tratamientos—, fue de 30,6 y 37,0 días termales en el Exp1 y Exp2, respectivamente. La extensión del fotoperíodo aumentó la duración de las etapas post-floración cuando dicha duración fue expresada tanto en días termales como días calendario. Los tratamientos de sombreado retrasaron muy levemente el desarrollo del cultivo y la madurez; sin embargo estos efectos sólo fueron estadísticamente significativos en el Exp2 bajo fotoperíodo natural y extendido 3 h (Cuadro 2.1).

Cuando se analizó la duración de la etapa R1-R7 en función del fotoperíodo promedio de dicha etapa se pudo ajustar una única recta para todos los tratamientos y experimentos, es decir que todos los tratamientos estuvieron por encima del fotoperíodo umbral. La pendiente de dicha función, que indica la sensibilidad fotoperiódica del genotipo durante la etapa reproductiva, fue de $13,2 \pm 1,1 \text{ dt h}^{-1}$ ($r^2=0,94$ $p<0,01$). Dentro de toda la etapa reproductiva, la duración de la subfase R1-R3 fue la única sensible al fotoperíodo y por lo tanto la etapa que se prolongó por la extensión del fotoperíodo (Figura 2.2). De hecho, no se observó sensibilidad fotoperiódica durante la subfase R3-R7 ($2,6 \pm 1,9 \text{ dt h}^{-1}$; $r^2=0,19$ $p=0,21$) pero sí durante la subfase R1-R3 ($11,0 \pm 2,3 \text{ dt h}^{-1}$; $r^2=0,75$ $p<0,01$).

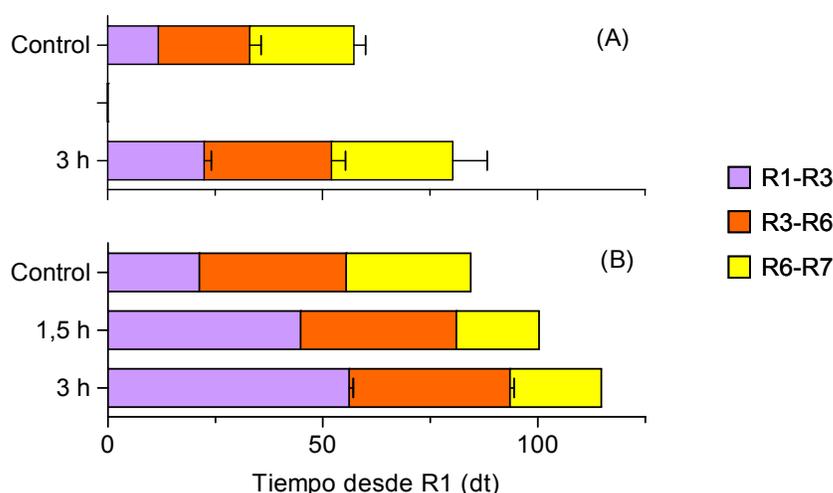


Figura 2.2. Duración de las subetapas reproductivas desde principio de floración a principio de fructificación (R1-R3, barras lilas), principio de fructificación a llenado efectivo de granos (R3-R6, barras naranjas) y llenado efectivo de granos a madurez fisiológica (R6-R7, barras amarillas) expresadas en días termal (dt) para plantas no sombreadas bajo fotoperíodo natural (control) o extendido (1,5 o 3 h) durante la etapa R1-R7 en el Exp1 (A) y Exp2 (B). Las barras de error representan el desvío estándar.

2.3.3. Crecimiento y rendimiento

Tanto los tratamientos de sombreo como fotoperíodo modificaron la radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada durante post-floración (RFA_{R1-R7}) (Cuadro 2.2). Dado que el canopeo de todas las parcelas cerró el entresurco e interceptó más del 95% de la radiación incidente antes de que comenzaran los tratamientos (en R1), la extensión del fotoperíodo aumentó la RFA_{R1-R7} debido a su efecto sobre la duración de la etapa R1-R7 (en la Figura 2.3A se muestra la relación para todo el ciclo: VE-R7), mientras que el sombreo redujo la RFA_{R1-R7} debido a la reducción de la radiación incidente diaria durante dicha etapa.

Cuadro 2.2. Rendimiento y componentes. Radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada durante post-floración (RFA_{R1-R7}), biomasa aérea seca, índice de cosecha, rendimiento, número y peso individual de granos, número de vainas y granos por vaina.

	RFA_{R1-R7} (MJ m ⁻²)	Biomasa (g m ⁻²)	Índice de cosecha	Rendi- miento (g m ⁻²)	Número de granos (m ⁻²)	Peso individual (mg)	Número de vainas (m ⁻²)	Granos por vaina
Exp1								
No sombreado								
Control	252,6 b	834 a	0,39 a	327 a	2176 a	150 a	1011 a	2,15 a
3 h	297,3 a	1086 a	0,38 a	405 a	2985 a	137 a	1342 a	2,23 a
Sombreado								
Control	155,2 d	602 a	0,44 a	271 a	1816 a	146 a	807 a	2,24 a
3 h	183,9 c	1083 a	0,36 a	390 a	3018 a	128 a	1275 a	2,37 a
Fotoperíodo	**	*	ns	ns	*	ns	*	ns
Radiación	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Fot.*Rad.	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Exp2								
No sombreado								
Control	716,3 c	1955 b	0,36 a	698 b	3544 b	197 a	2146 b	1,66 ab
1,5 h	827,5 b	2796 a	0,35 a	1017 a	5479 a	183 a	3270 a	1,68 ab
3 h	879,9 a	2464 ab	0,29 a	716 b	3965 b	180 a	2703 ab	1,47 b
Sombreado								
Control	456,4 f	1009 c	0,31 a	323 c	1769 c	178 a	969 c	1,85 a
1,5 h	524,2 e	2243 ab	0,36 a	809 ab	4388 ab	184 a	2570 b	1,71 ab
3 h	571,9 d	2277 ab	0,37 a	843 ab	4447 ab	191 a	2688 ab	1,65 ab
Fotoperíodo	**	**	ns	**	**	ns	**	*
Radiación	**	**	ns	**	**	ns	**	*
Fot.*Rad.	**	*	ns	**	**	ns	**	ns

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre medias ($p < 0,05$) de acuerdo al test de Tukey dentro de cada experimento. No significativo (ns), $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**).

La biomasa aérea en madurez se asoció con la radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada durante todo el ciclo del cultivo para todos los tratamientos y experimentos (Figura 2.3B). Sin embargo, casi todos los tratamientos con fotoperíodo extendido presentaron residuales positivos, lo cual indicaría una mayor eficiencia en el uso de la radiación. Analizando la biomasa área en función de la RFA acumulada en VE, R1, R3, R6 y R7 (datos no mostrados), se observa que la extensión fotoperiódica aumentó la eficiencia en el uso de la radiación después de R3, cuando comienza a definirse el rendimiento, como se discutirá más adelante.

En ambos experimentos, la extensión del fotoperíodo aumentó la biomasa aérea con respecto al control (Cuadro 2.2). En el Exp1, la extensión de 3 h aumentó significativamente la biomasa aérea un 51% ($p < 0,05$) independientemente del tratamiento de sombreado. En el Exp2 hubo una interacción significativa ($p < 0,05$) del fotoperíodo y la radiación sobre la biomasa aérea. En consecuencia, la magnitud del incremento de biomasa bajo fotoperíodo extendido dependió del nivel de sombreado. En los tratamientos no sombreados, la extensión fotoperiódica de 1,5 y 3 h aumentó la biomasa un 43 y 26% respectivamente; mientras que en los tratamientos sombreados, el aumento de la biomasa debido a la extensión del fotoperíodo fue el doble en comparación con el fotoperíodo natural. En el Exp2, la sombra redujo en un 48% la biomasa aérea bajo fotoperíodo natural y no tuvo en efecto significativo cuando el fotoperíodo fue extendido. En el Exp1, las mismas tendencias fueron observadas, pero la interacción entre el fotoperíodo y la radiación no fue significativa ($p = 0,33$). Por ende, la extensión del fotoperíodo aumentó la biomasa un 30 y 80% en los tratamientos no sombreados y sombreados, respectivamente; y la sombra tendió a reducir la biomasa aérea un 28% bajo fotoperíodo natural, pero no tuvo efecto cuando el fotoperíodo fue extendido.

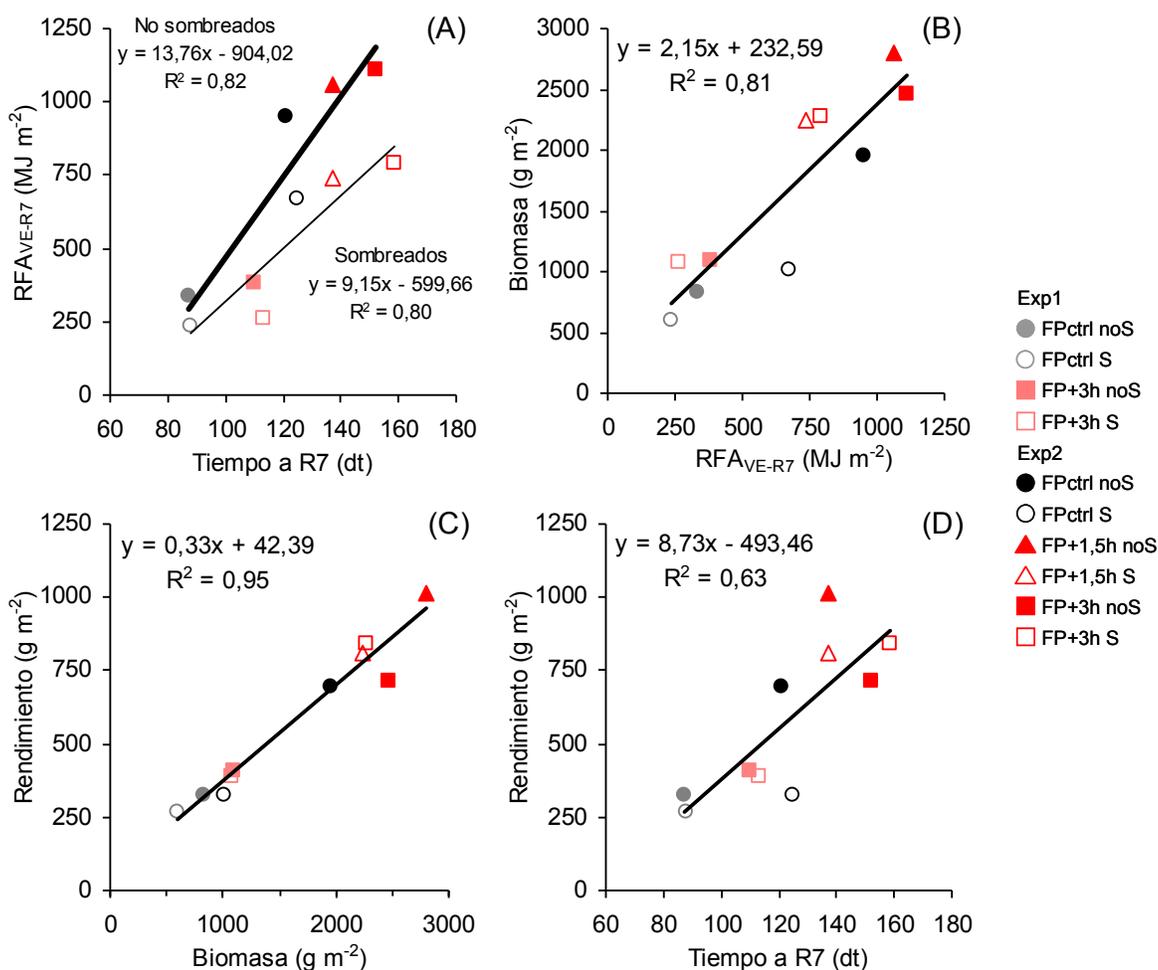


Figura 2.3. Relación entre el tiempo a madurez, la radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada durante todo el ciclo (RFA_{VE-R7}), la biomasa aérea y el rendimiento (sucesivamente del panel A al D). Recta de regresión y ecuación para todos los tratamientos excepto en (A), en donde se ajustó una recta para los tratamientos no sombreados (línea gruesa y ecuación superior) y otra para los sombreados (línea fina y ecuación inferior).

El índice de cosecha no fue afectado significativamente por el sombreado ni por la extensión del fotoperíodo (Cuadro 2.2); por lo tanto existió una única relación entre el rendimiento y la biomasa (Figura 2.3C). Sin embargo, la evolución de la partición de biomasa a estructuras reproductivas a lo largo del tiempo difirió entre tratamientos (Figura 2.4). En el Exp1, la extensión del fotoperíodo retrasó (aunque no significativamente) 8 días termales el comienzo de la partición y disminuyó la tasa de partición. En el Exp2 la extensión del fotoperíodo retrasó más de 20 días el comienzo de la partición pero no afectó significativamente la tasa de partición. El sombreado no afectó el comienzo ni la tasa de partición de biomasa hacia estructuras reproductivas.

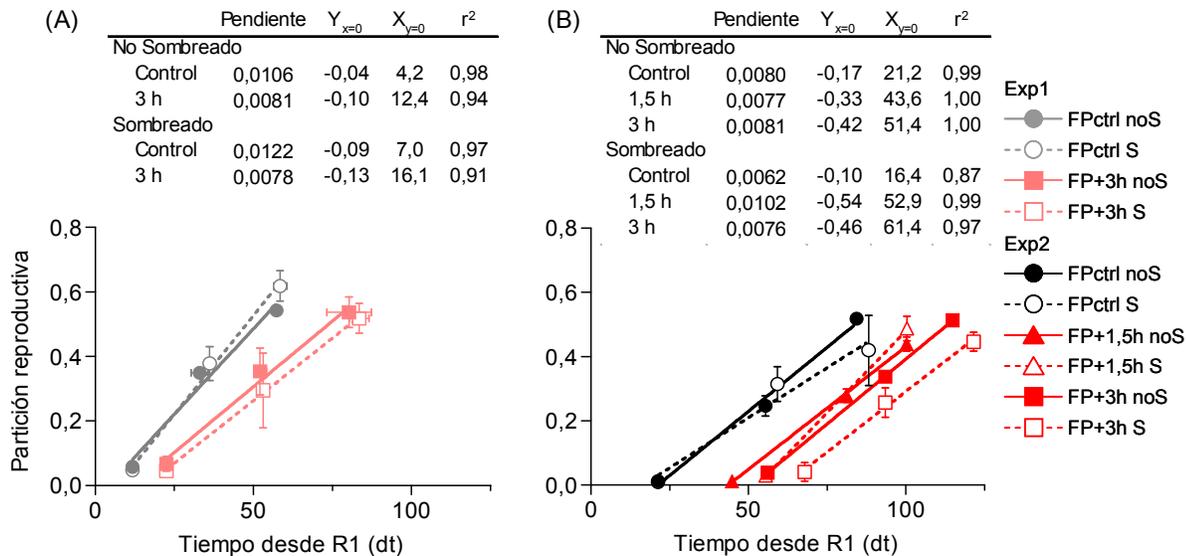


Figura 2.4. Partición de biomasa a estructuras reproductivas en función de los días termales desde floración (R1) en el Exp1 (A) y el Exp2 (B). El muestreo se hizo en los estados R3, R6 y R7 para cada tratamiento. Las barras de error representan el desvío estándar. Las rectas de regresión se ajustaron al promedio de cada tratamiento. La pendiente, ordenada al origen ($Y_{x=0}$), ordenada a la abscisa ($X_{y=0}$) y coeficiente de determinación se presentan en el cuadro inserto en la figura.

El rendimiento tendió a incrementarse bajo días largos y reducirse bajo sombreado (Cuadro 2.2), pero estos efectos fueron sólo estadísticamente significativos ($p < 0,05$) en el Exp2. En el Exp1 los días largos tendieron a incrementar un 33% el rendimiento independientemente del tratamiento de sombreado ($p = 0,13$). En el Exp2, hubo una interacción significativa entre el fotoperíodo y la radiación en la determinación del rendimiento. En los tratamientos no sombreados, la extensión de 1,5 h aumentó el rendimiento un 46% mientras que la extensión de 3 h no aumentó significativamente el rendimiento respecto al fotoperíodo natural. Bajo sombra, ambos niveles de extensión del fotoperíodo aumentaron significativamente el rendimiento cerca de 2,5 veces en relación al control. Por lo tanto, el efecto negativo del sombreado sobre el rendimiento fue mucho más fuerte bajo fotoperíodo natural, donde redujo el rendimiento cerca del 50%, que bajo días largos donde no afectó significativamente el rendimiento. La variabilidad observada en el rendimiento, en los distintos tratamientos y experimentos, estuvo asociada a variaciones en la biomasa aérea ($r = 0,98$ $p < 0,01$) y no en el índice de cosecha ($r = -0,35$ $p = 0,31$).

2.3.4. Componentes numéricos del rendimiento

Dentro de los subcomponentes numéricos del rendimiento, la variabilidad del rendimiento estuvo asociada a los cambios en el número de granos por unidad de superficie para todos los tratamientos y experimentos ($r=0,97$ $p<0,01$). En el Exp1, la extensión de 3 h aumentó significativamente ($p<0,05$) un 50% el número de granos por unidad de superficie respecto al control, independientemente del tratamiento de sombreo (Cuadro 2.2). En el Exp2, el efecto del sombreo sobre el número de granos y su interacción significativa ($p<0,05$) con el fotoperíodo fue similar a la observada para el rendimiento. En los tratamientos no sombreados, la extensión de 1,5 h aumentó significativamente un 55% el número de granos respecto al control pero cuando el fotoperíodo se extendió 3 h, el número de granos no fue significativamente distinto al control. Bajo sombra, ambas extensiones del fotoperíodo superaron 2,5 veces el número de granos con respecto al control.

No se observaron diferencias significativas entre tratamientos en el peso individual de los granos (Cuadro 2.2) aunque, en el Exp1, las semillas tendieron a ser más livianas ($p=0,10$) cuando el fotoperíodo fue extendido. La relación fuente/destino, estimada como el cociente entre la biomasa aérea vegetativa (fuente) y el número de flores y vainas por m^2 (destinos), en pleno llenado de granos (R6) fue de $0,20 \text{ g} \pm 0,03$ en el Exp1 y $0,41 \text{ g} \pm 0,06$ en el Exp2 sin efectos significativos del fotoperíodo y la radiación.

Si bien no hubo diferencias significativas entre tratamientos en el peso individual final de los granos, sí se observaron efectos del fotoperíodo y la radiación sobre la tasa, inicio y fin del llenado de los granos en distintas posiciones del tallo principal (Figura 2.5 y Cuadro 2.3). Bajo fotoperíodo extendido, el llenado efectivo siempre se inició entre 2 y 4 semanas más tarde, tanto en los nudos que florecieron al mismo tiempo (basales y centrales) como en los nudos que florecieron en distintos momentos debido a la prolongación del crecimiento apical (nudos apicales). El llenado también terminó más tarde bajo fotoperíodo extendido. En algunas posiciones del tallo de las plantas bajo fotoperíodo extendido, especialmente en los nudos apicales, las vainas adquirieron su color típico de madurez pero los granos no alcanzaron la constancia de peso que determina madurez fisiológica. Esto indica que en algunas posiciones de la planta, las semillas terminaron su llenado en el mismo momento que el cultivo llegó a plena madurez.

El efecto del fotoperíodo sobre la tasa de llenado fue menos evidente, resultando distinto entre años y según la posición y el tratamiento de sombreo (Cuadro 2.3). En los nudos basales y bajo plena radiación, la tasa de llenado fue un 39% menor bajo fotoperíodo extendido en comparación con el fotoperíodo natural; sin embargo, no hubo diferencias entre tratamientos fotoperiódicos bajo sombra. En los nudos centrales y bajo plena radiación, la respuesta fue opuesta entre años: en el Exp1 la tasa fue 24% menor y en el Exp2 121% mayor bajo fotoperíodo extendido en comparación con el fotoperíodo natural. En los nudos centrales y bajo sombra, la tasa de llenado fue mayor (22-57%) bajo fotoperíodo extendido en ambos experimentos. En los nudos apicales, la tasa de llenado no fue estadísticamente diferente entre tratamientos de fotoperíodo y radiación en ninguno de los experimentos.

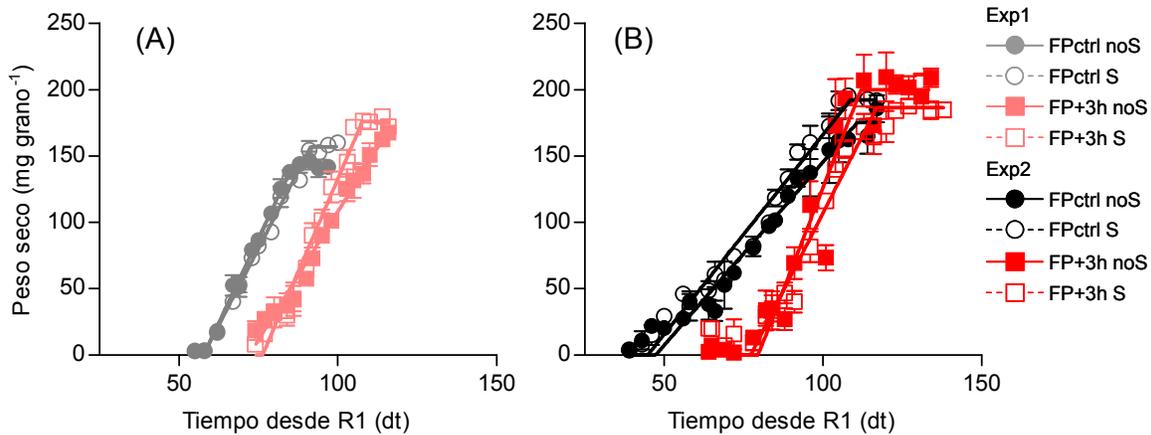


Figura 2.5. Llenado de granos. Peso seco individual promedio de los granos de una vaina de un racimo primario ubicada en una posición central del tallo en función del tiempo desde la floración del cultivo (expresado en días termales) En el Exp1 (A) y el Exp2 (B). Ver parámetros del modelo ajustado para esta y otras posiciones del tallo principal en el Cuadro 2.3. Las barras de error representan el desvío estándar.

Cuadro 2.3. Tasa, inicio y fin (madurez fisiológica) del llenado efectivo de granos. Promedio y error estándar de los parámetros estimados mediante un modelo lineal y *plateau*. En la Figura 2.5 se muestra el modelo ajustado para los nudos centrales en el Exp1 y Exp2.

	No Sombreado		Sombreado	
	Control	Extendido 3h	Control	Extendido 3h
Exp1				
Nudos Basales				
tasa (mg dt ⁻¹)	5,4 ± 0,2	3,3 ± 0,2	4,7 ± 0,3	4,5 ± 0,3
inicio (dt)	52,3 ± 0,8	72,3 ± 1,5	51,0 ± 1,2	79,0 ± 1,1
fin (dt)	82,4 ± 0,8	~117,6	86,2 ± 1,3	112,7 ± 1,7
Nudos Centrales				
tasa (mg dt ⁻¹)	5,1 ± 0,2	3,9 ± 0,2	4,6 ± 0,1	5,6 ± 0,3
inicio (dt)	57,7 ± 0,6	72,1 ± 1,0	57,7 ± 0,6	76,3 ± 0,8
fin (dt)	86,0 ± 0,7	115,5 ± 2,1	91,5 ± 0,8	107,8 ± 1,1
Nudos Apicales				
tasa (mg dt ⁻¹)	5,1 ± 0,2	5,3 ± 0,3	4,6 ± 0,1	5,1 ± 0,4
inicio (dt)	57,7 ± 0,6	89,0 ± 0,8	57,7 ± 0,6	87,6 ± 1,4
fin (dt)	86,0 ± 0,7	~131,6	91,5 ± 0,8	~131,5
Exp2				
Nudos Centrales				
tasa (mg dt ⁻¹)	2,8 ± 0,1	6,2 ± 0,6	3,0 ± 0,1	4,7 ± 0,2
inicio (dt)	47,3 ± 2,0	79,6 ± 1,8	44,8 ± 1,3	77,2 ± 1,2
fin (dt)	110,8 ± 3,3	112,0 ± 2,3	108,7 ± 2,2	117,0 ± 1,5
Nudos Apicales				
tasa (mg dt ⁻¹)	4,0 ± 0,3	3,7 ± 0,1	3,9 ± 0,2	4,7 ± 0,2
inicio (dt)	60,1 ± 2,1	76,4 ± 1,3	55,6 ± 1,5	83,5 ± 1,1
fin (dt)	108,0 ± 3,4	~135,9	101,5 ± 2,2	125,1 ± 1,5

Los parámetros precedidos por “~” fueron estimados como “ambiguos” por el modelo, ya que su intervalo de confianza es muy amplio.

En ambos experimentos, los aumentos en el número de granos por m² estuvieron estrechamente relacionados al aumento del número de vainas por m² ($r=0,97$ $p<0,01$), mientras que la relación entre el número de granos por m² y el número de granos por vainas fue débil y opuesta entre experimentos ($r=0,56$ $p=0,44$ Exp1, $r=-0,49$ $p=0,33$ Exp2). Independientemente del tratamiento de radiación, el número de granos por vaina se afectó levemente por la extensión fotoperiódica en el Exp2, reduciendo su número un 4 y 11% bajo 1,5 y 3 h respectivamente, en comparación con el fotoperíodo natural (Cuadro 2.2). El sombreado aumentó un 8% el número de granos por vaina en el Exp2 respecto al control no sombreado, independientemente del tratamiento fotoperiódico.

El número de vainas por m² estuvo positiva y linealmente asociado al número de nudos por m² (con una pendiente de $1,23 \pm 0,11$ vainas por nudo, $r^2=0,94$ $p<0,01$) para todos los tratamientos y experimentos. La extensión del fotoperíodo y el sombreado alteraron el número de vainas por m² como resultado de sus efectos sobre el número de nudos y vainas por nudo en los tallos principales y las ramas (Cuadro 2.4). Ningún tratamiento afectó la tasa de aparición de nudos u hojas en el tallo principal, el filocrono fue de $3,99 \pm 0,03$ y $3,50 \pm 0,03$ días termales por hoja en el Exp1 y Exp2 respectivamente.

Cuadro 2.4. Componentes numéricos del rendimiento. Número de nudos por m² y vainas por nudo en los tallos y ramas y valores totales.

	Tallos principales		Ramas		Total	
	Nudos (m ⁻²)	Vainas por nudo	Nudos (m ⁻²)	Vainas por nudo	Nudos (m ⁻²)	Vainas por nudo
Exp1						
No sombreado						
Control	494 bc	1,18 ab	374 a	1,17 a	868 ab	1,18 a
3 h	670 ab	1,40 a	568 a	0,72 bc	1239 a	1,09 a
Sombreado						
Control	465 c	1,16 b	255 a	0,98 ab	720 b	1,10 a
3 h	790 a	1,24 ab	465 a	0,62 c	1254 a	1,01 a
Fotoperíodo	**	*	*	**	**	ns
Radiación	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Fot.*Rad.	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Exp2						
No sombreado						
Control	820 bc	1,44 a	948 ab	1,13 a	1768 bc	1,21 a
1,5 h	1034 a	1,47 a	1550 a	1,21 a	2584 a	1,25 a
3 h	1012 a	1,18 a	1523 a	1,13 a	2535 a	1,07 ab
Sombreado						
Control	764 c	0,92 a	490 b	0,67 b	1253 c	0,78 b
1,5 h	963 ab	1,16 a	1442 a	1,10 a	2405 ab	1,07 ab
3 h	1120 a	1,26 a	1093 ab	1,33 a	2213 ab	1,23 a
Fotoperíodo	**	ns	**	**	**	ns
Radiación	ns	*	*	*	*	*
Fot.*Rad.	*	ns	ns	**	ns	*

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre medias ($p<0,05$) de acuerdo al test de Tukey dentro de cada experimento. No significativo (ns), $p<0,05$ (*), $p<0,01$ (**).

En el Exp1, independientemente del tratamiento de sombreado, la extensión de 3 h aumentó significativamente ($p < 0,05$) un 52 % el número de nudos y un 13 % el número de vainas por nudo en los tallos principales (Cuadro 2.4). A su vez, la extensión del fotoperíodo aumentó un 64% el número de nudos en las ramas pero redujo un 38% el número de vainas por nudo en las ramas. Como resultado, la extensión del fotoperíodo aumentó significativamente ($p < 0,05$) un 72% el número de vainas en los tallos principales pero no modificó significativamente ($p = 0,98$) el número de vainas en las ramas. En el Exp1, el sombreado redujo un 24% el número de nudos en las ramas ($p = 0,19$) y un 7 el número de vainas en los tallos principales ($p = 0,11$) y un 15% en las ramas ($p = 0,06$), independientemente del tratamiento fotoperiódico; sin embargo ninguno de estos efectos fue estadísticamente significativo.

En el Exp2, la extensión fotoperiódica y el sombreado también afectaron el número de vainas por m^2 como resultado de sus efectos sobre el número de nudos y el número de vainas por nudo en los tallos principales y las ramas (Cuadro 2.4). En este experimento hubo una interacción significativa ($p < 0,05$) entre el fotoperíodo y la radiación en la determinación del número de nudos por m^2 en los tallos principales: la magnitud del efecto fotoperiódico (aumento del 23 al 47%) dependió del tratamiento de sombreado. El número de nudos en las ramas aumentó significativamente ($p < 0,01$) un 95% cuando se extendió el fotoperíodo y se redujo significativamente ($p < 0,05$) un 25% bajo sombra. El número de vainas por nudo en el tallo principal se redujo significativamente ($p < 0,05$) un 18% bajo sombra pero no fue modificado por los tratamientos fotoperiódicos.

En el Exp2, también hubo una interacción significativa entre el fotoperíodo y la radiación en la determinación del número de vainas por nudo en las ramas: sólo bajo sombra, el fotoperíodo aumentó significativamente ($p < 0,05$) un 81% el número de vainas por nudo en las ramas respecto al control. Como resultado del efecto fotoperiódico sobre el número de nudos y vainas por nudo en el Exp2, el número de vainas por m^2 aumentó significativamente ($p < 0,05$) un 39 y 139% en tallos principales y ramas, respectivamente, cuando el fotoperíodo fue extendido respecto al control e independientemente del tratamiento de radiación. Además, el sombreado redujo significativamente ($p < 0,05$) un 18% y 29% el número de vainas en tallos principales y ramas, respectivamente, respecto al control no sombreado e independientemente del tratamiento fotoperiódico.

El número de nudos por m^2 aumentó a medida que se retrasó el llenado efectivo de granos (R6) como muestra la Figura 2.6A, explicando, al menos parcialmente, cómo el fotoperíodo aumentó el número de vainas por unidad de superficie a través de la producción de nudos. Los tratamientos sombreados respondieron de la misma forma al retraso en el llenado efectivo de granos, aunque generalmente con menos nudos por m^2 . La Figura 2.6B muestra la relación entre el número de nudos en los tallos principales y las ramas y el tiempo a R6, mostrando que las ramas tuvieron una contribución creciente en la definición del número total de nudos (y por lo tanto el número de vainas), a medida que el tiempo a R6 aumentó por efecto de las fechas de siembra (diferencias entre experimentos) o del fotoperíodo. Resulta interesante que el número de nudos en los tallos principales del tratamiento 3 h del Exp1 y el tratamiento control del Exp2 fue similar, en línea con su similar fotoperíodo medio y duración de la etapa post-floración. El uso de días calendarios en lugar de días termales no modifica la tendencia ilustrada en la Figura 2.6 (datos no mostrados).

Como resultado de la alta correlación entre los subcomponentes del rendimiento, el rendimiento estuvo positiva y linealmente asociado con el número de nudos por m^2 con una única relación para todos los tratamientos y experimentos (Figura 2.7A). El

rendimiento también estuvo positiva y linealmente asociado con la RFA_{R1-R7} (Figura 2.7B); sin embargo, los tratamientos de fotoperíodo natural presentaron un patrón consistente de residuales negativos respecto a la recta ajustada entre el rendimiento y la RFA_{R1-R7} . Aunque ambas relaciones fueron estadísticamente significativas, la relación entre el rendimiento y el número de nudos por m^2 fue más robusta que la relación entre el rendimiento y la RFA_{R1-R7} .

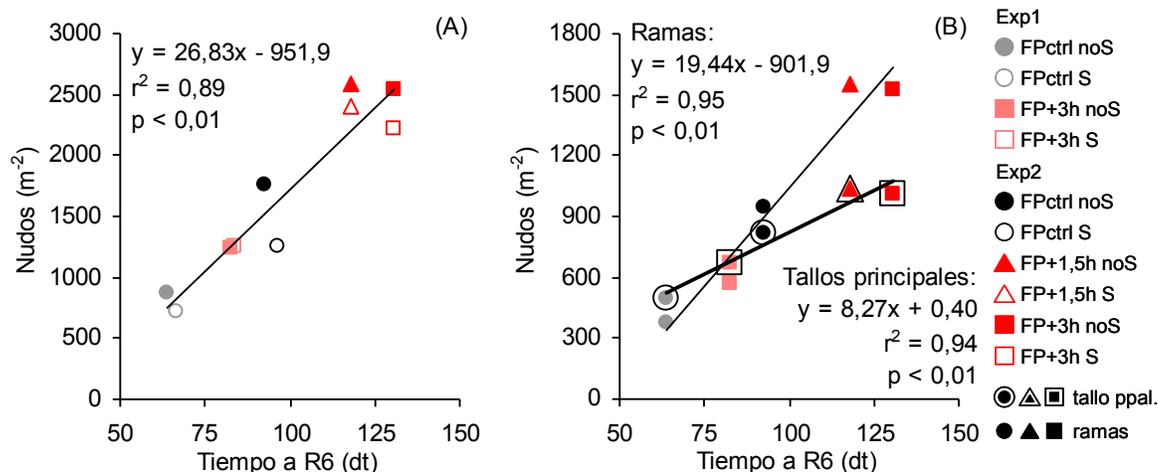


Figura 2.6. Relación entre el número de nudos por m^2 y el tiempo a llenado efectivo de granos (R6) en toda la planta (A) y en tallos principales y ramas separadamente (B). En A, la línea llena y ecuación representan el modelo ajustado a todos los tratamientos y experimentos. La Figura B contiene sólo datos de los tratamientos no sombreados; los símbolos no enmarcados, la línea gruesa y la ecuación inferior representan los datos y regresión lineal de los tallos principales; los símbolos enmarcados, la línea fina y la ecuación superior representan los datos y regresión lineal de las ramas.

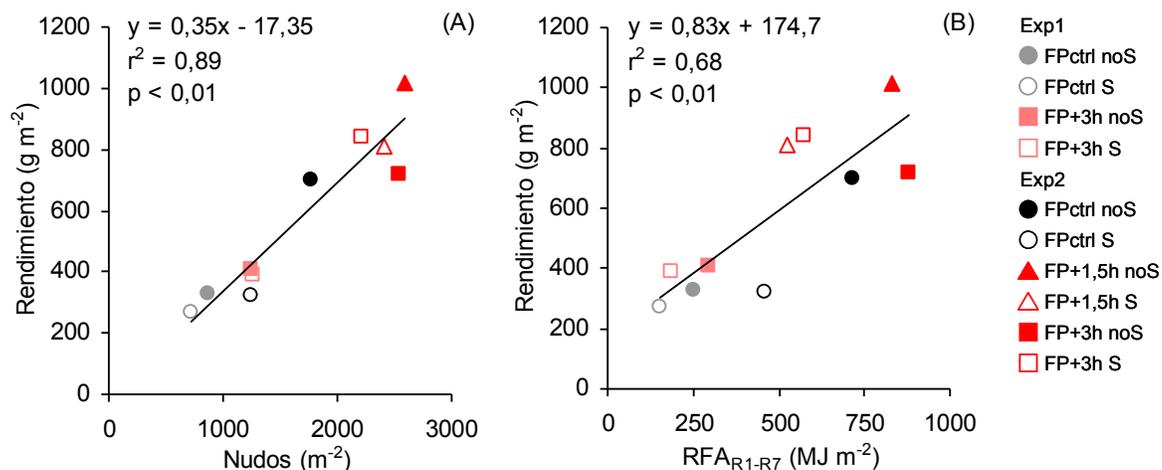


Figura 2.7. Relación entre el rendimiento y el número de nudos por m^2 (A) o la radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada durante post-floración (RFA_{R1-R7}) (B). Las líneas y ecuaciones en (A) y (B) representan la regresión lineal ajustada a todos los tratamientos y experimentos.

2.3.5. Efectos fotoperiódicos directos e indirectos

Si bien la tasa de producción de nudos y la tasa de aparición de hojas no fueron afectados por el fotoperíodo, los días largos afectaron directamente el desarrollo del ápice, retardando su cambio al estado reproductivo, consecuentemente, más nudos fueron producidos en los tallos principales y más aún en las ramas de las plantas expuestas a fotoperíodo extendido. Sin embargo, este efecto fotoperiódico directo sobre la producción de nudos fue acompañado por un retraso en el desarrollo reproductivo del cultivo. A medida que se extendió la duración post-floración, el cultivo capturó más iRFA; por lo tanto, parte del efecto fotoperiódico sobre el número de nudos por m² es resultado de este efecto indirecto mediado por la RFA_{VE-R6} (Figura 2.8). Los resultados de esta tesis sugieren que la magnitud de este último efecto dependería de las condiciones ambientales. Debido a las diferencias en la fecha de siembra, la iRFA promedio durante VE-R6 fue un 37% menor en el Exp1 comparado con el Exp2 (5,94 vs. 9,45 MJ m⁻²). Por lo tanto, el incremento en la RFA_{VE-R6} por retrasos en R6, por efecto fotoperiódico, fue menor en el Exp1 comparado con el Exp2. Sin embargo, dentro de cada experimento, hubo una relación lineal entre el tiempo a R6 y la RFA_{VE-R6} provocada por el efecto fotoperiódico sobre el tiempo a R6.

La promoción fotoperiódica del número de nudos por m² asociada a incrementos en la radiación acumulada por la prolongación del ciclo puede ser considerada un efecto fotoperiódico indirecto. Para estimar qué parte del aumento fotoperiódico del número de nudos por m² se debía al aumento de la RFA_{VE-R6} (efecto fotoperiódico indirecto sobre el número de nudos por m²), se utilizó un modelo de regresión lineal ajustado al número de nudos por m² en función de la RFA_{VE-R6} sólo para los tratamientos de fotoperíodo natural (sombreados y no sombreados de ambos experimentos; línea punteada de la Figura 2.8). La diferencia entre el número observado de nudos por m² y número de nudos por m² estimado por efecto fotoperiódico indirecto fue considerado el efecto fotoperiódico directo sobre el número de nudos por m². A modo de ejemplo, las flechas en la Figura 2.8 ilustran el efecto de la extensión fotoperiódica de 3 h del Exp2. La dirección de la flecha vacía ilustra el efecto fotoperiódico indirecto (el aumento del número de nudos por m² por causa del aumento de la RFA_{VE-R6}), que comienza en su respectivo tratamiento control y finaliza en el número de nudos por m² estimado por el modelo de regresión. La flecha completa ilustra el efecto fotoperiódico directo sobre el número de nudos por m². El valor del efecto fotoperiódico directo estimado para cada tratamiento está detallado en el Cuadro 2.5. La magnitud del efecto fotoperiódico directo parece ser mayor en los tratamientos sombreados respecto a los no sombreados, ya que los tratamientos sombreados presentan residuales positivos y los no sombreados residuales negativos.

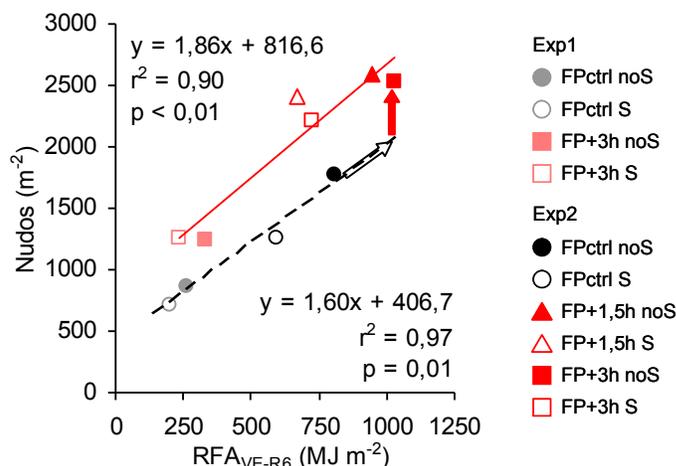


Figura 2.8. Relación entre el número de nudos por m^2 y la radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada desde emergencia hasta el llenado efectivo de granos (RFA_{VE-R6}). La línea punteada negra y ecuación inferior representan la regresión lineal ajustada para los tratamientos bajo fotoperíodo natural. La línea continua roja y ecuación superior representan la regresión lineal ajustada para los tratamientos de fotoperíodo extendido (1,5 y 3 h). A modo de ejemplo, las flechas vacía y llena indican el efecto fotoperiódico indirecto y directo sobre el número de nudos por m^2 , respectivamente, estimado para el tratamiento no sombreado de 3 h de extensión fotoperiódica del Exp2.

Cuadro 2.5. Efecto fotoperiódico indirecto y directo sobre el número de nudos por m^2 . Promedio \pm desvío estándar. El efecto fotoperiódico total (indirecto + directo) sobre el número de nudos por m^2 fue calculado como la diferencia entre el número de nudos bajo fotoperíodo extendido y el número de nudos bajo fotoperíodo natural. El efecto fotoperiódico indirecto sobre el número de nudos por m^2 (provocado por el aumento de la radiación acumulada) fue estimado utilizando un modelo de regresión lineal ajustado sólo a los tratamientos bajo fotoperíodo natural: Δ nudos por $m^2 = 1,60 \cdot \Delta RFA_{VE-R6} + 406,7$ (ver Figura 2.8). El efecto fotoperiódico directo fue considerado independiente de la radiación interceptada y acumulada durante VE-R6 y fue calculada como la diferencia entre el efecto fotoperiódico total y el indirecto.

	Efecto fotoperiódico sobre los nudos por m^2	
	Efecto indirecto (nudos por m^2)	Efecto directo (nudos por m^2)
Exp1		
No sombreado		
3 h	115,2 \pm 10,3	301,5 \pm 189,8
Sombreado		
3 h	54,2 \pm 5,8	476,7 \pm 166,4
Exp2		
No sombreado		
1,5 h	220,3 \pm 15,7	675,1 \pm 88,9
3 h	353,3 \pm 12,6	481,2 \pm 224,5
Sombreado		
1,5 h	116,9 \pm 16,4	925,2 \pm 217,5
3 h	205,7 \pm 11,4	609,7 \pm 284,7

2.4. Discusión

Como era esperado, la extensión del fotoperíodo durante la etapa de post-floración prolongó su duración respecto al control bajo fotoperíodo natural (Figura 2.2) en coincidencia con trabajos anteriores (Han *et al.*, 2006; Kantolic y Slafer, 2001; Kantolic *et al.*, 2013; Kumudini *et al.*, 2007), pero sólo la subetapa R1-R3 fue sensible al fotoperíodo y prolongó su duración. En otros trabajos, en los cuales el fotoperíodo se extendió durante R3-R7, también se observó que la subetapa R3-R6 (inmediatamente posterior al inicio del tratamiento) se prolongó pero la subetapa siguiente R6-R7 no (Kantolic y Slafer, 2001; ver Figura 3 en Kantolic y Slafer, 2007). Dentro de la etapa R3-R6, en Kantolic y Slafer (2007, ver Figura 3) la subetapa R3-R4 (inmediatamente posterior al inicio del tratamiento) también fue la que más se prolongó pero, en cambio, en Kantolic *et al.* (2013) fueron las subetapas siguientes R4-R5 y R5-R6 las que más se prolongaron. Aparentemente, cuando el efecto fotoperiódico sobre una subetapa es muy importante (por la duración o la magnitud del tratamiento o la sensibilidad del genotipo), la respuesta en la subetapa siguiente disminuye (comparar Figuras 1 y 2 en Kantolic y Slafer, 2005).

La prolongación de la etapa post-floración aumentó la radiación fotosintéticamente activa interceptada acumulada y la producción de biomasa aérea (Cuadro 2.2) en línea con los trabajos de Kantolic y Slafer (2001; 2013) y Kantolic *et al.* (2013). Este aumento en paralelo de la radiación acumulada y la producción de biomasa, producto de la extensión del fotoperíodo, generalmente enmascara posibles efectos fotoperiódicos directos sobre la determinación del rendimiento que son independientes del aumento de la radiación acumulada por la prolongación de la etapa. La combinación factorial de tratamientos de extensión de fotoperíodo y sombreado utilizados en esta tesis permitieron analizar los mecanismos de determinación del rendimiento en el cultivo de soja en forma relativamente independiente del aumento de la radiación interceptada y acumulada.

Sorprendentemente, cuando el fotoperíodo fue extendido, la reducción de la biomasa por efecto del sombreado fue de mucho menor magnitud, o incluso despreciable, comparada con la reducción observada bajo condiciones de fotoperíodo natural (Cuadro 2.2). Aunque la interacción entre los tratamientos de fotoperíodo y radiación fue sólo significativa en el Exp2, la misma tendencia fue observada en ambos experimentos. Esta interacción entre el fotoperíodo y la radiación en la producción de biomasa no ha sido informada previamente y sugiere que una etapa reproductiva más prolongada podría conferir una mejor adaptación a regiones con baja radiación incidente durante post-floración y tolerancia al estrés. Egli (2010a) propuso que esta mayor tolerancia estaría vinculada a la mayor posibilidad de recuperarse tras un período de estrés. También podría deberse a un menor requerimiento diario de fotoasimilados (siguiendo el modelo propuesto por Charles-Edwards *et al.*, 1986) cuando la etapa reproductiva es más prolongada. Sin embargo, se debe prestar atención al comparar estos resultados, obtenidos con sombreados leves (*i. e.* 35% de reducción de la radiación incidente) durante toda la etapa post-floración, con otros trabajos en los cuales los tratamientos de sombreado fueron de mayor magnitud (*i. e.* 60-80% de reducción de la radiación incidente) o durante períodos más cortos de tiempo (Egli, 2010a; Egli *et al.*, 1985; Jiang y Egli, 1993).

Junto con el retraso en el desarrollo reproductivo, la partición de fotoasimilados a estructuras reproductivas a nivel de cultivo también se retrasó bajo fotoperíodos extendidos (Figura 2.4). En concordancia con los resultados de esta tesis, pero a nivel de fruto, Zheng *et al.* (2003) encontraron que la elongación de vainas se anticipó bajo

fotoperíodos cortos. La partición a órganos reproductivos comenzó poco antes de R3 en todos los tratamientos (Figura 2.4). Durante la etapa R1-R3, si bien el cultivo ya se encuentra en la etapa reproductiva, la partición de fotoasimilados a órganos reproductivos es casi despreciable en comparación con el crecimiento de estructuras vegetativas. Dado que en esta tesis, la etapa R1-R3 fue la única que se prolongó al extender el fotoperíodo a partir de R1 (Figura 2.2), en R3 los cultivos bajo fotoperíodo extendido tenían más biomasa, pero principalmente más biomasa vegetativa. La extensión fotoperiódica retrasó el inicio de la partición (R3) pero luego no afectó la tasa de partición ni la tasa de acumulación de biomasa (Figura 2.4). Por lo tanto, cuando comenzó la partición, las plantas bajo fotoperíodo extendido tenían más nudos y una mayor biomasa, y por ende particionaron más biomasa en términos absolutos. Dado que en la etapa R1-R3 no hubo crecimiento de estructuras reproductivas, en índice de cosecha no se modificó bajo fotoperíodo largo (Cuadro 2.2). Este es un hallazgo interesante que aclara el efecto fotoperiódico en post-floración sobre la partición de biomasa y procesos determinantes del rendimiento.

La extensión del fotoperíodo tendió a aumentar el rendimiento y el número de granos (Cuadro 2.2) (como encontraron Guiamet y Nakayama, 1984a; Kantolic y Slafer, 2001; Kantolic y Slafer, 2007) mientras que el sombreado tendió a reducirlos (tal como reportaron Egli, 2010a; Egli y Yu, 1991; Schou *et al.*, 1978). En el Exp2, el tratamiento no sombreado y extendido 3 h aumentó el potencial de rendimiento (como muestra su elevado número de nudos por m²) pero no aumentó el rendimiento real (Cuadro 2.2), posiblemente debido a las peores condiciones ambientales exploradas (principalmente menor iRFA, Cuadro 2.1) durante el período de establecimiento de vainas y llenado de granos. No obstante, estas mismas condiciones ambientales, sorprendentemente, no impidieron un mayor rendimiento en el tratamiento sombreado y extendido 3h (Cuadro 2.2). Nuevamente, el efecto del sombreado fue más fuerte bajo fotoperíodo natural, revelando una interacción entre el fotoperíodo y la radiación en la determinación del rendimiento. Esta interacción podría estar asociada al efecto fotoperiódico directo, que al estar vinculado al alivio de la competencia entre vainas, es lógico suponer que su impacto será mayor bajo condiciones de menos recursos. Los cambios en el rendimiento fueron explicados por cambios en el número de granos, vainas y nudos por m² tanto para los tratamientos de fotoperíodo como radiación (Sección 2.3.4). Cuando el fotoperíodo fue extendido, los nudos por m² estuvieron asociados al tiempo hasta llenado efectivo de granos (R6) (Figura 2.6) de la misma manera que se encontró para cultivares de distinto largo de ciclo (Egli, 1993). A diferencia de trabajos anteriores, no se encontraron respuestas significativas del peso individual de granos al fotoperíodo (Kantolic, 2006; Morandi *et al.*, 1990; Thomas y Raper, 1976) o el sombreado (Egli, 1997) (Cuadro 2.2), probablemente porque en esta tesis los tratamientos se iniciaron mucho antes del llenado de granos, produciéndose ajustes en el número de granos en lugar del peso. Además, al inicio del llenado efectivo de granos, la relación fuente/destino fue la misma para todos los tratamientos dentro de cada experimento, afianzando la idea de que las plantas bajo fotoperíodo extendido no experimentaron limitaciones de fuente acentuadas a pesar de tener un número mucho más alto de granos que las plantas bajo fotoperíodo natural. Por otro lado, el hecho de que en algunas posiciones de la planta los granos de los tratamientos de fotoperíodo extendido no alcanzaran un *plateau* en su peso (Figura 2.5 y Cuadro 2.3), indicaría que los granos no habían completado su llenado cuando cayó la primera helada.

Los efectos del fotoperíodo y la radiación sobre el rendimiento y sus componentes fueron similares en ambos experimentos, pero generalmente fueron de menor magnitud y significancia en el Exp1 en comparación con el Exp2 (Cuadro 2.2). Esta diferencia

puede atribuirse a la fecha de siembra muy tardía utilizada en el Exp1, que expuso al cultivo a menores fotoperíodos, temperaturas y niveles de radiación durante las etapas reproductivas en comparación con el Exp2 (Cuadro 2.1). Kantolic y Slafer (2001) y Kantolic *et al.* (2013) reportaron una interacción entre la respuesta a la extensión del fotoperíodo y la fecha de siembra, y también encontraron que la extensión del fotoperíodo promovió más el rendimiento cuando los cultivos eran sembrados en fechas óptimas en comparación con fechas tardías.

En el Exp1, sembrado tardíamente, el ciclo del cultivo fue más corto que en el Exp2 (Figura 2.2) y las vainas estuvieron localizadas principalmente en el tallo principal, mientras que en el Exp2 las vainas estuvieron distribuidas más uniformemente entre los tallos principales y las ramas, aumentando la contribución de las vainas de ramas al rendimiento (Cuadro 2.4). Esto podría explicar porqué el efecto fotoperiódico sobre las vainas por nudo fue mayor en los tallos principales en el Exp1 y mayor en las ramas en el Exp2, y sugiere que la respuesta fotoperiódica se hace más evidente en aquel sector de la planta que más contribuye al rendimiento. Es posible que en genotipos de hábito de crecimiento determinado, que tienen una mayor proporción de sus nudos en las ramas, la respuesta fotoperiódica también sea más evidente en las ramas que en el tallo principal. La falta de respuesta fotoperiódica en el número de vainas por nudo en los tallos principales del Exp2 difiere con lo observado en el Exp1 y resultados previos (Kantolic *et al.*, 2013). Una posible explicación para este resultado, es que la estimación del número de vainas por nudo fue realizada sobre la totalidad de nudos producidos, no sólo sobre los nudos reproductivos, y en el Exp2 hubo muchos nudos no reproductivos en los tratamientos de fotoperíodo extendido, ya sea porque dieron origen a ramas o porque no produjeron vainas. En el siguiente capítulo se presentará un análisis más detallado de los efectos fotoperiódicos a nivel de nudo y el rol del fotoperíodo en la determinación del número de vainas por nudo.

Aunque pueden esperarse cambios en la distribución espacial de vainas en respuesta al fotoperíodo y la radiación (próximo capítulo de esta tesis y Kantolic *et al.*, 2013), se encontró una única relación entre las vainas y nudos por unidad de superficie para todos los tratamientos y experimentos (Sección 2.3.4), indicando que la producción de nudos fue el principal componente determinante del número de vainas por unidad de superficie. Dado que al inicio de los tratamientos (R1) todas las parcelas estaban interceptando más del 95% de la radiación incidente (por encima del índice de área foliar crítico) (Sección 2.3.3), la relación positiva entre vainas y nudos por m^2 no refleja diferencias en la eficiencia de captura de radiación. Varios trabajos han reportado una relación positiva entre el número de vainas y nudos por unidad de superficie (Ball *et al.*, 2001; Board y Tan, 1995; Egli y Bruening, 2000; Kahlon *et al.*, 2011). Quijano y Morandi (2011) también reportaron que el número de vainas iniciadas (>2 mm) aumentó en línea con el número nudos por m^2 aun en respuesta a tratamientos de defoliación; sin embargo, el número final de vainas a madurez disminuyó cuando el tratamiento de defoliación redujo la intercepción de radiación por debajo del 95%. El rango de nudos por m^2 explorado en esta tesis (de 720 a 2584 por m^2) excede ampliamente el rango explorado en trabajos previos. Sin embargo, se encontró que el número de vainas aumentó linealmente ante aumentos en el número de nudos por m^2 (Sección 2.3.4) a diferencia de la respuesta curvilínea encontrada por Egli (2013) utilizando diferentes cultivares y densidades de siembra como fuente de variación del número de nudos por m^2 .

Como fue recientemente expresado por Egli (2013), es difícil determinar si el número de vainas por unidad de superficie aumenta como resultado de la tasa de crecimiento del cultivo o de los cambios en la producción de nudos que ocurren en

paralelo. En esta tesis, se propone una aproximación para distinguir entre efectos fotoperiódicos directos e indirectos sobre la producción de nudos. La relación presentada en la Figura 2.8 ilustra la cuantificación del efecto fotoperiódico indirecto (*i. e.* resultante del aumento de la oferta de radiación por la prolongación del ciclo) y del efecto fotoperiódico directo (*i. e.* aquellos nudos resultantes del retraso en el desarrollo reproductivo de los ápices).

En trabajos previos cuando el fotoperíodo fue extendido desde R3 hasta madurez, los efectos fotoperiódicos sobre el número de granos fueron considerados exclusivamente “indirectos” (Kantolic y Slafer, 2001; Kantolic y Slafer, 2005; Kantolic *et al.*, 2013). En contraste, en este trabajo, en el cual el fotoperíodo fue extendido desde R1, se encontró que los efectos fotoperiódicos directos fueron consistentemente mayores que los indirectos, especialmente bajo sombra. Las diferencias entre los resultados de este trabajo y la literatura previa pueden atribuirse al momento de inicio de los tratamientos ya que en este trabajo se iniciaron en R1 mientras que en los trabajos previos se iniciaron en R3. El efecto fotoperiódico directo estuvo asociado con la mayor producción de nudos y el retraso en el comienzo de la partición de biomasa (Sección 2.3.5). Estos procesos ocurrieron durante la etapa R1-R3 que fue la única prolongada por efecto de la extensión del fotoperíodo desde R1; por lo tanto, al iniciar los tratamientos en R3 se podría estar limitando la expresión de los efectos directos.

El efecto fotoperiódico directo sobre el número de nudos podría interpretarse como un resultado del retraso del desarrollo reproductivo del cultivo que permite que continúe la actividad vegetativa en los ápices y se sigan produciendo nudos (Guiamet y Nakayama, 1984a; Han *et al.*, 2006). Recientemente, *E3* y *E4*, dos genes *phyA* (*phytochrome A*, un fotorreceptor vinculado a la respuesta al fotoperíodo), fueron vinculados a la persistencia de la actividad vegetativa del ápice en plantas de soja indeterminadas cultivadas en días largos (Xu *et al.*, 2013). Estos hallazgos demuestran que el fotoperíodo resulta esencial en la determinación del número final de nudos, evidenciando su carácter “directo”. En esta tesis se destaca que esta respuesta resulta, finalmente, en incrementos del número de vainas y el rendimiento. El efecto fotoperiódico directo sobre la producción de nudos puede ser explicado a través de procesos fisiológicos y moleculares sobre la identidad meristemática, pero cómo estos nudos se traducen en más rendimiento sin aumentos proporcionales en la radiación capturada no está claro y probablemente involucre otros efectos fotoperiódicos directos adicionales sobre el establecimiento de vainas.

Podría sugerirse que la extensión del fotoperíodo incrementó el número de vainas mediante el aumento de la producción de flores, ya que la cantidad de vainas logradas por planta suele estar relacionada con la cantidad de flores por planta (Egli, 2005; Jiang y Egli, 1993). Los motivos de esta especulación son: (1) existe una asociación fuerte entre el número de nudos y flores producidas a nivel de planta (Egli, 2005) y a nivel de cultivo (Egli, 2013) y (2) el número de flores por nudo depende más de la duración de la floración (Egli y Bruening, 2000) que de la disponibilidad de asimilados. A su vez, la floración se prolonga cuando se retrasa el desarrollo bajo días largos (Guiamet y Nakayama, 1984a; Summerfield *et al.*, 1998). Sin embargo, es poco probable que el número de flores haya limitado la producción de vainas, ya que se observó un aborto de flores y vainas considerable (datos no mostrados). A pesar de ello, no puede descartarse que los días largos hayan alterado la distribución de flores y producción de vainas afectando la fijación de vainas (Egli, 2005; Egli y Bruening, 2006a) como se verá en el próximo capítulo.

Dado que las interferencias entre vainas ocurren principalmente dentro de un mismo

nudo (Bruening y Egli, 1999; Bruening y Egli, 2000), la extensión del fotoperíodo podría haber aumentando el número de vainas aliviando las interferencias entre vainas a través del retraso del crecimiento de las mismas. Charles-Edwards *et al.* (1986) propusieron que el número potencial de granos por unidad de superficie depende de la fotosíntesis diaria, la partición de fotoasimilados hacia estructuras reproductivas y el mínimo flujo de asimilados requerido para evitar el aborto de un sitio de grano potencial. Dado que el inicio del llenado efectivo de granos fue retrasado bajo días largos (Figura 2.2), los resultados de esta tesis sugieren que el fotoperíodo podría aliviar este tipo de interferencias al retrasar la demanda de fotoasimilados. En el próximo capítulo se presentarán resultados que permiten evaluar esta hipótesis.

Por otra parte, ha sido demostrado que en el cultivo de soja, las interferencias entre vainas a nivel de nudo no dependen exclusivamente de la oferta de asimilados (Bruening y Egli, 1999; Bruening y Egli, 2000; Heitholt *et al.*, 1986b; Huff y Dybing, 1980) ya que el número de vainas y semillas por nudo responde curvilíneamente al aumento del *input* de carbono a nivel de nudo (Bruening y Egli, 1999; Bruening y Egli, 2000). Por lo tanto, el aumento de la provisión de asimilados a un nudo no se traduce linealmente en un aumento del número de vainas, disminuyendo la eficiencia con la que dichos asimilados se utilizan para producir vainas y comportándose como una situación restringida por los destinos, como propuso Egli (2013, para cultivos con distinta cantidad de nudos debido a distintos grupos de madurez y densidad de siembra).

En los experimentos de este capítulo, la manipulación del fotoperíodo y la radiación generó un amplio rango explorado de radiación por nudo (RFA_{R1-R7} nudo⁻¹) (Cuadro 2.1). Como la extensión del fotoperíodo aumentó el número de nudos por m² en mayor medida que la radiación acumulada (Cuadro 2.2), la RFA_{R1-R7} nudo⁻¹ disminuyó bajo fotoperíodo extendido. Por otro lado, la sombra redujo la RFA_{R1-R7} nudo⁻¹ porque redujo en mayor medida la radiación acumulada que el número de nudos por m². Asumiendo que la radiación interceptada y acumulada, o los fotoasimilados producidos a partir de dicha radiación, se distribuyen uniformemente dentro del canopeo, la RFA_{R1-R7} nudo⁻¹ podría tomarse como un estimador grosero de la disponibilidad de asimilados por nudo. Esta asunción está apoyada en resultados que muestran que la distribución de asimilados cambia dramáticamente en respuesta a la demanda de los destinos (Egli y Leggett, 1976; Fellows *et al.*, 1979; Thorne y Koller, 1974). Entonces, en estos términos la extensión del fotoperíodo redujo la cantidad de asimilados por nudo.

Un análisis adicional de los resultados de este capítulo indica que la eficiencia en el uso de la radiación definida en términos de rendimiento ($EUR_{R,RFA}$, estimada como el cociente entre el rendimiento y la RFA_{R1-R7}) estuvo negativa y linealmente asociada con la RFA_{R1-R7} nudo⁻¹ para todos los tratamientos y experimentos (Figura 2.9). Esta relación negativa coincide con la relación curvilínea entre el número de semillas por nudo y la disponibilidad de carbono por nudo encontrada en nudos aislados (ver Figura 2.6 en Bruening y Egli, 1999; y Figura 2.1 en Bruening y Egli, 2000). Por lo tanto la $EUR_{R,RFA}$ aumentó cuando la fuente (disponibilidad de asimilados o radiación) y los destinos (vainas) estuvieron espacialmente distribuidos en un mayor número de nudos. La separación espacial de las vainas en desarrollo en distintos nudos, observada cuando el fotoperíodo es extendido, podría entonces resultar en un aumento del uso de la radiación para producir rendimiento. Por lo tanto, la dinámica espacial de los destinos debería integrarse en modelos que predicen el número de vainas a partir de la disponibilidad de asimilados junto con la dinámica de floración y fijación de vainas, como propuso Egli (2005).

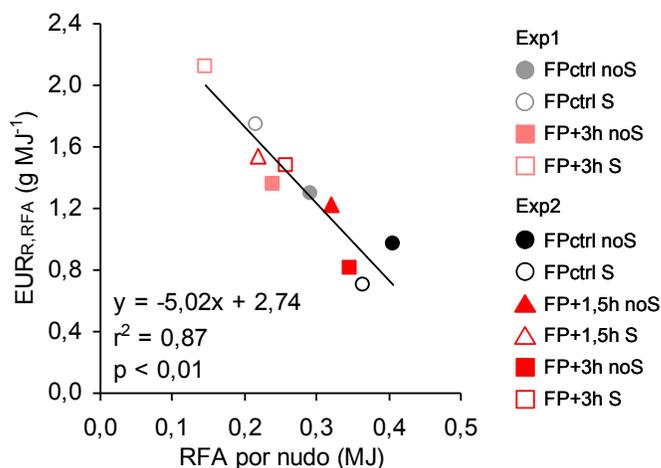


Figura 2.9. Eficiencia en el uso de la radiación interceptada durante post-floración para producir rendimiento ($EUR_{R,RFA}$) en función de la radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada durante post-floración (RFA_{R1-R7}) disponible por nudo. La línea y ecuación representan la regresión lineal ajustada para todos tratamientos y experimentos.

El incremento del número de nudos por m^2 provocado por la extensión del fotoperíodo también pudo haber modificado la distribución de luz y su calidad dentro del canopeo. Una mejora en la penetración de la luz dentro del canopeo —hojas menos saturadas— aumentaría la eficiencia en el uso de la radiación (Loomis y Amthor, 1999). Sin embargo, las diferencias entre tratamientos en el uso de la radiación (para producir biomasa total aérea) se registraron después de R3 (en las subetapas R3-R6 y/o R6-R7), cuando comienza la activa acumulación de biomasa en estructuras reproductivas. Por lo tanto, las mejoras en la eficiencia en el uso de la radiación parecen estar más vinculadas a la generación de rendimiento que a la capacidad fotosintética de las plantas. Por otro lado, la luz roja puede aumentar directamente el establecimiento de vainas en soja (Heindl y Brun, 1983; Myers *et al.*, 1987); sin embargo, en un canopeo denso como el observado al extender el fotoperíodo, la proporción de luz roja sería relativamente baja. Desafortunadamente el efecto del fotoperíodo sobre la calidad de luz dentro del canopeo no fue registrado en esta tesis, pero sus posibles efectos sobre el crecimiento y rendimiento no pueden ser descartados.

En resumen, la sombra tendió a reducir el rendimiento y el fotoperíodo a aumentarlo a través de sus efectos sobre el número de nudos por unidad de superficie, modificando el número de vainas y granos. El número de nudos aumentó en respuesta a aumentos en la RFA_{VE-R6} (*i. e.* por efecto del sombreado o por efecto fotoperiódico indirecto) y también como resultados del efecto fotoperiódico directo sobre el desarrollo del cultivo. Como resultado, más vainas se establecieron por unidad de RFA_{VE-R6} bajo fotoperíodo extendido. Se sugiere que la extensión del fotoperíodo aumentó la $EUR_{R,RFA}$ a través del alivio de interferencias intra nodales entre vainas. En el siguiente capítulo se presenta un estudio más detallado a nivel de nudo para abordar el complejo proceso de determinación del rendimiento en el cultivo de soja.

3. Desarrollo y establecimiento de vainas a nivel de nudo bajo condiciones combinadas de fotoperíodo y radiación

3.1. Introducción

Tal como se observó en el Capítulo 2 y en otros trabajos (Guiamet y Nakayama, 1984a; Kantolic y Slafer, 2001; Kantolic *et al.*, 2013; Morandi *et al.*, 1988), fotoperíodos largos durante post-floración aumentan el número de granos y vainas por unidad de superficie en el cultivo de soja principalmente debido al incremento de la producción de nudos y, en menor medida, debido a aumentos en el número de vainas por nudo, sin alterar el número de granos por vaina. El Capítulo 2 y otros trabajos recientes (Kantolic *et al.*, 2013) demuestran que parte del efecto de tratamientos de sombreado y el fotoperíodo sobre el número de granos por metro cuadrado pudieron explicarse a través de las variaciones en la radiación interceptada acumulada. Sin embargo, la distribución espacial de las vainas en distintos nudos del tallo principal, no fue la misma bajo tratamientos de fotoperíodo y sombreado, indicando posibles efectos fotoperiódicos sobre el establecimiento de vainas a nivel de nudo.

El número de vainas y granos presentan una respuesta de saturación a la disponibilidad de asimilados a nivel de nudo (Bruening y Egli, 1999; Bruening y Egli, 2000) sugiriendo la existencia de procesos regulatorios independientes de la disponibilidad de asimilados en dicho nivel. La supervivencia de una vaina depende en gran medida de la presencia de otras vainas en el mismo nudo pero es relativamente independiente de la presencia o la fotosíntesis de la hoja inserta en ese nudo (Egli, 2005) o la presencia de vainas en otros nudos (Heitholt *et al.*, 1986a). Estas evidencias sugieren que la interferencia entre vainas es un fenómeno principalmente intra nodal, subrayando la importancia de la distribución espacial de los destinos en distintos nudos dentro de la planta. Alteraciones del fotoperíodo desde el principio de post-floración modifican la producción de nudos (Guiamet y Nakayama, 1984a; Han *et al.*, 2006) y por lo tanto podrían alterar la distribución espacial de los destinos en diferentes nudos, como se discutió en el Capítulo 2.

Dentro de un nudo, las primeras vainas que aparecen en las posiciones basales del racimo primario, tienen menor probabilidad de abortar que aquellas que aparecen más tarde y/o en posiciones más distales o racimos laterales (Brun y Betts, 1984; Heitholt *et al.*, 1986a). Aparentemente, las flores que aparecen más temprano producen hormonas (como el ácido indolacético) que inducen el aborto de flores en posiciones distales, al menos durante su etapa sensible al aborto (Huff y Dybing, 1980). Los frutos que alcanzan su máxima longitud raramente abortan (Egli y Bruening, 2006a; Heitholt *et al.*, 1986a) y esto generalmente ocurre cerca del comienzo de la etapa lineal de crecimiento de granos. Estas evidencias demuestran el importante rol de la distribución temporal de destinos dentro de un nudo (Egli, 2005) y sugieren que el número de vainas podría ser aumentado mediante factores intrínsecos o ambientales que modifiquen la dinámica temporal de producción de vainas. Un candidato firme para modificar dicha dinámica es el fotoperíodo, ya que existen evidencias que muestran que la elongación de vainas se

[§] Parte de los resultados de este capítulo han sido publicados en Nico, M; Mantese AI; Miralles, DJ y Kantolic, AG. 2016. Soybean fruit development and set at the node level under combined photoperiod and radiation conditions. *Journal of Experimental Botany* 67:365-377.

anticipa cuando las plantas de soja son expuestas a fotoperíodos cortos desde floración en adelante (Zheng *et al.*, 2003).

Estas evidencias de efectos fotoperiódicos sobre la distribución temporal y espacial de los destinos de soja sugieren que el fotoperíodo podría afectar el establecimiento de vainas a nivel de nudo y aliviar interferencias intra nodales. En este capítulo se describirá la dinámica de desarrollo (macro y microscópico), crecimiento y establecimiento de vainas a nivel de nudo para identificar los principales mecanismos vinculados al aumento del número de vainas por nudo en respuesta a fotoperíodos largos.

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Cultivo y tratamientos

Las determinaciones y muestreos se realizaron sobre los experimentos descritos en el Capítulo 2, donde se detallan los materiales y métodos utilizados (secciones 2.2.1 y 2.2.2).

3.2.2. Recolección y análisis de datos

En R1, se marcaron tres plantas en cada parcela sobre las cuales se hicieron todas las mediciones a nivel de nudo. Las mediciones se realizaron en tres nudos consecutivos localizados en una posición basal (donde comenzó la floración), central (cinco nudos por encima del nudo donde comenzó la floración) o apical del tallo principal de cada planta (los últimos tres nudos) (Figura 3.1). El valor promedio de los tres nudos consecutivos en cada posición del tallo fue utilizado como repetición. La sección apical varió entre experimentos y tratamientos según el número final de nudos producidos en el tallo principal.

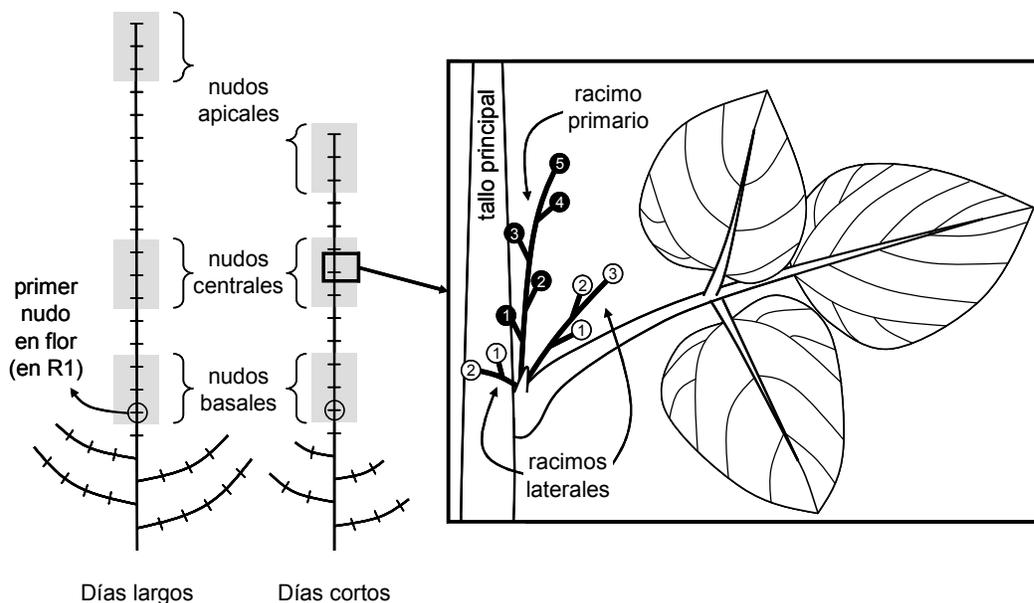


Figura 3.1. Representación esquemática de plantas de soja señalando el primer nudo en flor (redondeado) y la tríada de nudos basales, centrales y apicales observados en el tallo principal de plantas bajo días largos y cortos (izquierda) y la ubicación de los órganos reproductivos en el racimo primario y laterales dentro de un nudo (derecha). El número indica el orden de aparición dentro de cada racimo.

Dentro de cada nudo, se contaron los órganos reproductivos tres veces por semana en racimos primarios y laterales (secundarios y terciarios) separadamente (de acuerdo a Torigoe *et al.*, 1982) (Figura 3.1). Los órganos reproductivos se agruparon en cuatro categorías según su estado de desarrollo:

- A: flor abierta
- P₀: vaina <1 cm de longitud
- P₁: vaina de 1 a 2 cm de longitud
- P₂: vaina de 2 a 3 cm de longitud
- P₃: vaina de 3 a 4 cm de longitud
- P₄: vaina de 4 a 5 cm de longitud
- P₅: vaina >5 cm de longitud
- BF: vaina con granos >3 mm

En el Exp1 solamente se registraron las primeras cuatro categorías (A a P₂). Los estados P_n corresponden a distintos tamaños de vainas logrados durante su fase de elongación. El estado BF se consideró el comienzo del llenado efectivo de granos a nivel de vaina utilizando un criterio similar al usado por Fehr y Caviness (1977) para definir el estado R5 a nivel de cultivo.

Dado que el aborto de flores fue despreciable antes de que se alcanzara el máximo número de flores abiertas en cada nudo (datos no mostrados), el número total de flores se estimó a partir del máximo número de órganos reproductivos (flores y vainas) contados en cada nudo. El número final de vainas por nudo se contó en madurez. El cuaje de vainas se calculó como el cociente entre el número final de vainas y el número total de flores.

La duración de la floración dentro de cada racimo se determinó a partir de los días entre la primera y la última flor abierta en cada racimo. La primera vaina del racimo primario fue considerada la vaina dominante del nudo. La duración de la fase *lag* de dicha vaina se determinó a partir de los días entre la apertura de la flor y el momento en que la vaina alcanzó 2 cm de longitud. En el Exp2, el tiempo hasta el comienzo del llenado efectivo de la primera vaina del racimo primario se determinó a partir de los días entre la apertura de la flor y el momento en que un grano dentro de la vaina alcanzó los 3 mm.

Las duraciones de todas las etapas fueron corregidas por el efecto de la temperatura sobre el desarrollo y expresadas en días termales utilizando el modelo trilineal y las temperaturas cardinales propuestas por Piper *et al.* (1996). Las temperaturas mínimas y máximas diarias fueron recolectadas en una estación meteorológica automática ubicada a 200 m del experimento (Vantage Pro2, Davis Instruments, California, USA).

En R7, se muestrearon a mano todas las plantas (aproximadamente 14 plantas) ubicadas dentro de una superficie de 0,35 m² de cada parcela. En cada planta, se contaron las vainas en cada nudo del tallo principal y las ramas.

3.2.3. Microscopía óptica

Para determinar detalladamente el efecto del fotoperíodo sobre el desarrollo de los frutos, especialmente en etapas tempranas donde no hay elongación ni crecimiento activo, sino activa división celular y diferenciación de tejidos, se realizaron observaciones microscópicas.

En el Exp2, flores (A), vainas pequeñas (P₁ y P₂) y secciones transversales de vainas (P₃, P₄ y BF) fueron muestreadas a medida que aparecieron en el racimo primario de los nudos centrales de plantas no sombreadas bajo fotoperíodo natural o extendido 3 h. En

las plantas bajo fotoperíodo extendido, vainas en la categoría P_0 fueron muestreadas reiteradamente cada semana hasta que alcanzaron la siguiente categoría de desarrollo (P_1). Cada muestra se tomó de una planta diferente destinada para tal fin.

Las flores y vainas fueron cortadas con una hoja de afeitar limpia e inmediatamente fijadas en formaldehído-alcohol-acético por 48 h. Las muestras fijadas fueron deshidratadas en una serie de diluciones etanol-xilol y luego infiltradas y embebidas en parafina (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). El material embebido fue cortado transversal y seriadamente (10-12 μm de espesor) utilizando un micrótomo rotativo tipo Minot. Las secciones fueron teñidas con safranina y verde rápido FCF en etanol y montadas con bálsamo de Canadá. Las secciones fueron fotografiadas con un microscopio óptico Zeiss Axioplan (Oberkochen, Germany) y analizadas con el software Zeiss AxioCam ERc 5s (Jena, Germany). Se recolectaron y fijaron en formaldehído-alcohol-acético tres muestras de cada órgano reproductivo pero, salvo que fuera necesario, se analizó sólo una muestra por parcela.

3.2.4. Diseño experimental y análisis estadístico

Dado que el efecto de los tratamientos a nivel de nudo que se presentarán en este capítulo fue similar en el Exp1 y Exp2, los resultados a nivel de nudo se presentarán en forma conjunta para ambos experimentos salvo que se especifique lo contrario. Se ajustó un modelo lineal mixto a todas las variables medidas y estimadas utilizando el procedimiento *lme* del paquete *nlme* (Pinheiro *et al.*, 2012) de R v 3.1.3 (R Development Core Team, 2015) con el método de máxima verosimilitud restringida. Los factores “fotoperíodo”, “radiación” y su interacción fueron incluidos como términos fijos del modelo mientras que “experimento”, “bloque” y “planta” fueron considerados términos aleatorios. El factor “planta” fue anidado dentro de “bloque”, que a su vez fue anidado en el factor “experimento”. Las comparaciones de medias se realizaron mediante un procedimiento equivalente a la prueba de LSD (por sus siglas en inglés, *Least Significant Difference*) de Fisher con un nivel de significancia $\alpha=0,05$. El modelo lineal mixto se ajustó desde InfoStat v2015 (Di Rienzo *et al.*, 2015), una interfaz amigable del paquete *nlme* de R.

Para evaluar la asociación entre el establecimiento de vainas en los racimos primarios y laterales se analizaron todos los resultados mediante dos análisis de sendero: uno para el número de vainas del racimo primario y otro para las vainas del racimo lateral, incluyendo además datos de duración de la floración y número de flores abiertas. En el análisis de sendero se pretende construir modelos de causa-efecto entre las variables respuesta a través de la partición de la correlación entre dichas variables como la suma de los efectos directos de una variable sobre otra (senderos simples) y los efectos indirectos de una variable sobre otra vía una o más variables componentes (senderos compuestos) (Balzarini *et al.*, 2008). Los análisis de regresión, correlación y sendero se realizaron con InfoStat v2015 (Di Rienzo *et al.*, 2015).

3.3. Resultados

3.3.1. Perfiles de distribución de vainas

Como se mostró en el Capítulo 2 (Cuadro 2.4), el número de vainas por nudo a nivel de cultivo, no se modificó significativamente ante manipulaciones fotoperiódicas. Sin embargo, sí se observaron efectos significativos sobre el perfil de distribución de vainas en el tallo principal y las ramas ante manipulaciones del fotoperíodo y la radiación incidente (Figura 3.2). En el Exp1, la extensión del fotoperíodo, además de incrementar la cantidad de nudos con vainas en el tallo principal, aumentó el número de vainas por nudo en la parte central del tallo, mientras que disminuyó el número de vainas en las

ramas. El efecto fue similar bajo plena radiación y sombreado.

En el Exp2, hubo un efecto muy marcado de la extensión del fotoperíodo sobre la producción de vainas en las ramas, incluso observándose algunas ramas pequeñas en nudos ubicados en posiciones centrales del tallo (provenientes de una yema lateral). El efecto fotoperiódico sobre las vainas por nudo del tallo principal dependió de la magnitud de la extensión del fotoperíodo y del tratamiento de radiación incidente. Bajo plena radiación, la extensión de 1,5 h aumentó el número de vainas por nudo en la posición superior del tallo respecto al fotoperíodo natural, mientras que la extensión de 3 h, además de producir ese mismo efecto, disminuyó el número de vainas por nudo en la parte inferior del tallo. El sombreado redujo marcadamente el número de vainas por nudo en el tallo principal bajo fotoperíodo natural pero el efecto fue de menor magnitud bajo fotoperíodo extendido 1,5 h y prácticamente nulo bajo fotoperíodo extendido 3 h. Como resultado, bajo condiciones de sombra, siempre hubo más vainas por nudo en la extensión de 1,5 h respecto al fotoperíodo natural, y en la parte superior de las plantas en la extensión de 3 h respecto al fotoperíodo natural.

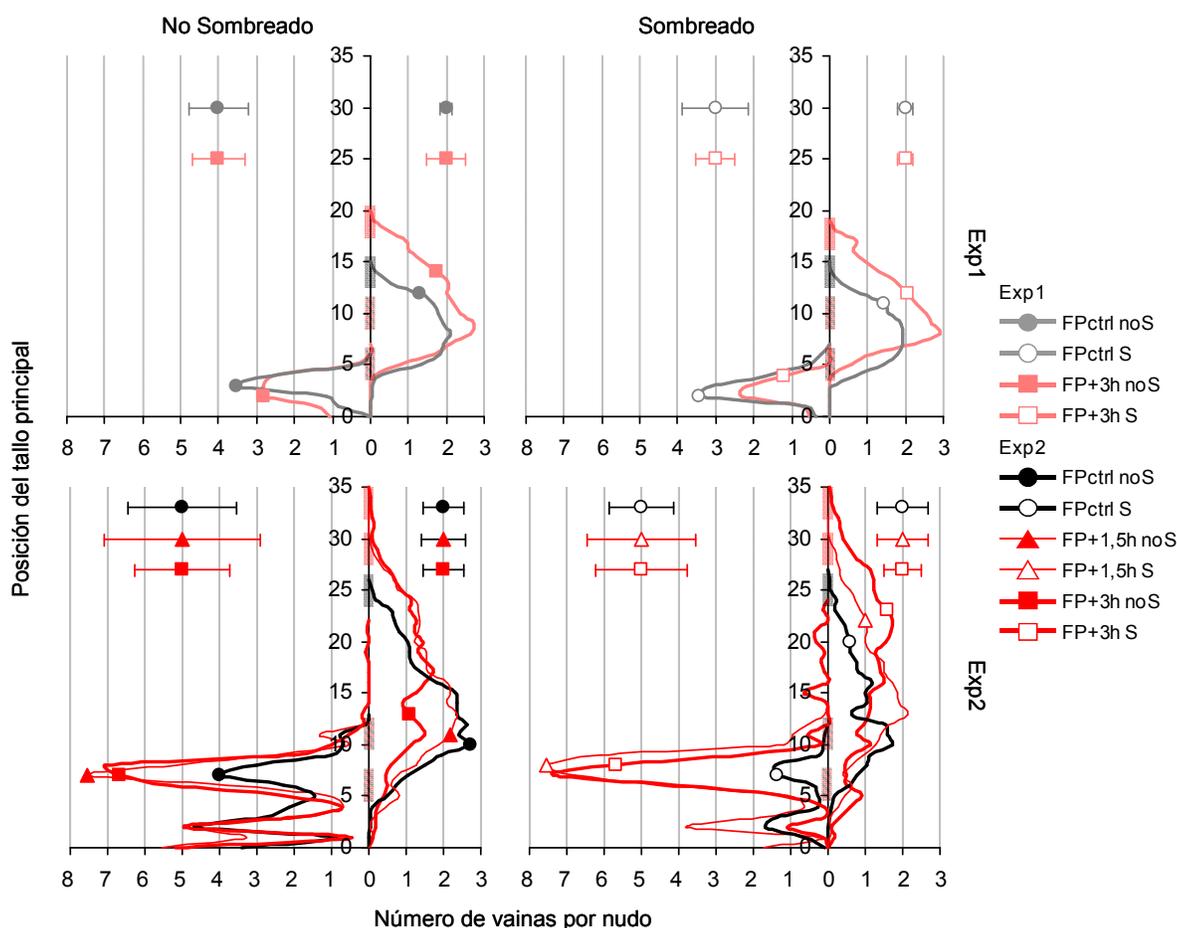


Figura 3.2. Perfil de distribución de vainas en el tallo principal. A la derecha del eje, número de vainas por nudo para rama inserta y a la izquierda del eje, número de vainas por nudo del tallo principal. En el Exp1 (arriba) o el Exp2 (abajo) para tratamientos no sombreados (izquierda, símbolos llenos) o sombreados (derecha, símbolos vacíos) y fotoperíodo natural (círculos negros) o extendido 1,5 (triángulos rojos) ó 3 h (cuadrados rojos). Valor promedio de aproximadamente 14 plantas dentro de 0,35 m² de parcela. Las barras de error representan el desvío estándar promedio para cada tratamiento. La zona sombreada en el eje vertical, representa la ubicación aproximada de los nudos basales, centrales y apicales que se analizarán en el resto del capítulo.

3.3.2. Producción de flores y vainas por nudo

En esta sección se describirá con más detalle cómo se generaron las vainas por nudo describiendo la producción de flores y vainas fijadas en racimos primarios y laterales dentro de cada nudo en distintas posiciones del tallo.

En los racimos primarios, el número de flores abiertas por nudo fue relativamente estable y varió entre 1,8 y 3,3 flores por racimo según la posición en el tallo principal y el tratamiento fotoperiódico (Cuadro 3.1). En los nudos apicales, la extensión del fotoperíodo aumentó la producción de flores, lo que resultó en 0,3 a 0,5 vainas más por nudo bajo la extensión de 1,5 y 3 h, respectivamente. Diferentemente, en los nudos basales y centrales, la extensión del fotoperíodo no afectó la producción de flores en racimos primarios. Sin embargo, sí hubo una interacción entre el fotoperíodo y la radiación en la determinación del número de vainas en dichos racimos: En los nudos centrales, el número de vainas en los racimos primarios se redujo con la extensión de 3 h pero sólo bajo plena radiación (0,8 vainas menos). En los nudos basales, la extensión de 3 h redujo el número de vainas en los racimos primarios en ambos niveles de radiación, mientras que la extensión de 1,5 h sólo lo redujo bajo sombra (*ca.* 0,7 vainas menos). El sombreado tuvo un efecto negativo adicional sobre el número de vainas en los racimos primarios (0,4 vainas menos).

En los racimos laterales, a diferencia de lo observado en los racimos primarios, el número de flores abiertas fue muy variable: desde 0,3 a 7,0 flores por racimo según la posición en el tallo y el tratamiento (Cuadro 3.1). El número de flores abiertas en los racimos laterales fue alto en los nudos basales y casi despreciable en los nudos apicales. El sombreado redujo el número de flores abiertas en los racimos laterales sólo en los nudos basales, mientras que la extensión del fotoperíodo aumentó la producción de flores en todas las posiciones del tallo (desde 0,1 a 2,5 flores más por racimo). Sin embargo, la magnitud del efecto fotoperiódico fue mayor en los nudos basales y centrales que en los nudos apicales, que tuvieron consistentemente pocas flores en sus racimos laterales (0,3 a 0,8 flores por racimo). En los nudos apicales, el número final de vainas en los racimos laterales no fue modificado por los tratamientos fotoperiódicos y fue reducido por el sombreado; de hecho, el establecimiento de vainas en los racimos laterales fue muy bajo para todos los tratamientos (0 a 0,2 vainas por racimo). En los nudos centrales, las flores extra producidas bajo ambos tratamientos fotoperiódicos resultaron en 0,7 y 1,0 vainas más por nudo, mientras que en los nudos basales, el número de vainas en los racimos laterales aumentó sólo cuando el fotoperíodo fue extendido 3 h.

En resumen, la extensión del fotoperíodo tuvo un efecto positivo sobre el número de vainas en los racimos laterales y, simultáneamente, un efecto negativo en los racimos primarios. La compensación de estos efectos fue completa en algunas posiciones del tallo y parcial en otras, aumentando en promedio 0,32 el número de vainas por nudo. La variabilidad de la respuesta del número de vainas por nudo al fotoperíodo y la radiación en distintas posiciones del tallo (Cuadro 3.1) explica los efectos leves detectados en el tallo principal a nivel de cultivo (Capítulo 2).

Cuadro 3.1. Número promedio de flores abiertas y número final de vainas por nudo en el racimo primario y laterales de nudos basales, centrales y apicales del tallo principal. Efectos menores y mayores de tratamientos de fotoperíodo y radiación en combinación factorial en ambos experimentos y nivel de significancia de los efectos fijos estimados.

	Nudos Basales				Nudos Centrales				Nudos Apicales			
	Racimo Primario		Racimos Laterales		Racimo Primario		Racimos Laterales		Racimo Primario		Racimos Laterales	
	Flores	Vainas	Flores	Vainas	Flores	Vainas	Flores	Vainas	Flores	Vainas	Flores	Vainas
No sombreado												
Control	3,1 a	1,6 a	4,2 b	1,1 ab	2,7 a	2,0 a	1,4 b	0,6 bc	1,8 b	0,6 cd	0,5 a	0,1 ab
1,5 h	2,9 a	1,3 ab	7,0 a	0,6 b	2,4 b	1,7 ab	2,5 a	1,3 ab	2,3 b	0,9 bcd	0,7 a	0,2 a
3 h	3,2 a	0,9 c	6,6 a	1,9 a	2,7 ab	1,2 b	2,6 a	1,1 ab	3,4 a	1,2 a	0,8 a	0,1 ab
Sombreado												
Control	3,1 a	1,3 b	2,7 b	0,6 b	2,7 ab	1,5 b	1,1 b	0,3 c	1,8 b	0,5 d	0,4 a	0,1 ab
1,5 h	2,8 a	0,6 d	5,0 ab	1,1 ab	2,6 ab	1,7 ab	3,0 a	1,6 a	2,3 b	0,9 abc	0,3 a	0,0 ab
3 h	2,8 a	0,5 d	4,5 ab	1,8 a	2,6 ab	1,5 b	2,3 a	1,3 ab	3,2 a	1,0 ab	0,8 a	0,0 b
Control												
Control	3,1 A	1,5 A	3,5 B	0,9 B	2,7 A	1,7 A	1,3 B	0,5 B	1,8 B	0,6 B	0,4 B	0,1 A
1,5 h	2,9 A	0,9 B	6,0 A	0,9 B	2,5 A	1,7 A	2,8 A	1,5 A	2,3 B	0,9 A	0,5 AB	0,1 A
3 h	3,0 A	0,7 C	5,6 A	1,9 A	2,6 A	1,4 B	2,4 A	1,2 A	3,3 A	1,1 A	0,8 A	0,1 A
No sombreado												
No sombreado	3,0 A	1,3 A	6,0 A	1,2 A	2,6 A	1,6 A	2,1 A	1,0 A	2,5 A	0,9 A	0,7 A	0,1 A
Sombreado												
Sombreado	2,9 A	0,8 B	4,1 B	1,2 A	2,6 A	1,6 A	2,2 A	1,0 A	2,5 A	0,8 A	0,5 A	0,0 B
Fotoperíodo	ns	***	***	***	ns	**	***	***	***	***	*	ns
Radiación	ns	***	***	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**
Fotoperíodo*Radiación	ns	*	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns

No significativo (ns), $p < 0,1$ (*), $p < 0,05$ (**), $p < 0,01$ (***). Letras diferentes dentro de una columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) de acuerdo al test de comparación de medias LSD Fisher. Letras minúsculas diferencian los efectos menores de la combinación factorial de los tratamientos y letras mayúsculas diferencian los efectos mayores del fotoperíodo o la radiación separadamente.

3.3.3. Dinámica de floración y establecimiento de vainas a nivel de nudo

Como los tratamientos se impusieron inmediatamente después del comienzo de la floración (R1), la floración en el tallo principal avanzó a la misma tasa en los distintos tratamientos de fotoperíodo y radiación. Por ende, la floración comenzó al mismo tiempo en los racimos primarios de los nudos centrales, ubicados tres nudos por encima de los basales. En cambio, como las plantas tuvieron distinta cantidad de nudos en el tallo principal según el tratamiento fotoperiódico (Figura 3.2), la floración y el establecimiento de vainas en los nudos apicales ocurrió en distintos momentos y bajo distintas condiciones ambientales. En el Exp1, los nudos apicales florecieron el 16 de marzo (fin del verano) bajo fotoperíodo natural y 11 días después (6 días termales) en la extensión de 3 h. En el Exp2, los nudos apicales florecieron el 11 de enero (comienzo del verano) bajo fotoperíodo natural y 14 y 26 días después (14 y 25 días termales) bajo la extensión de 1,5 y 3 h, respectivamente. Como era esperado, la floración en los racimos laterales dentro de cada nudo, comenzó más tarde que en el racimo primario.

La extensión del fotoperíodo retrasó el desarrollo individual de las vainas desde el estado de flor abierta hasta el inicio del llenado efectivo de granos (Figura 3.3 y Figura A.1 del Anexo). Dentro de las fases de desarrollo estudiadas, la fase comprendida entre P_0 y P_1 fue la más sensible al fotoperíodo. La tasa de desarrollo (elongación e inicio de llenado efectivo) desde P_1 en adelante fue relativamente estable para los racimos primarios y laterales en todos los tratamientos de fotoperíodo y radiación. Por lo tanto, la fase *lag* de vainas sería responsable de las diferencias observadas en el tiempo al inicio del llenado (BF) de los racimos primarios entre tratamientos de fotoperíodo natural y extendido.

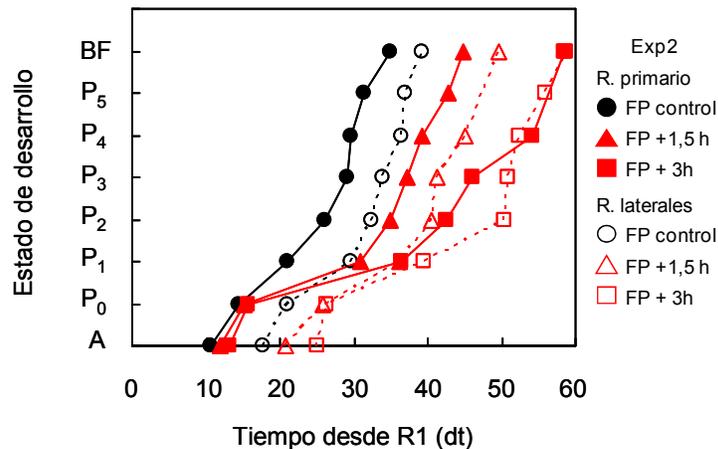


Figura 3.3. Desarrollo de la primera vaina en función de los días termales desde floración (R1) para el racimo primario (símbolos llenos y línea continua) o laterales (símbolos vacíos y línea punteada) en nudos centrales del tallo principal de plantas no sombreadas bajo fotoperíodo natural (círculos), extendido 1,5 (triángulos) o 3 h (cuadrados) en el Exp2. Para otras posiciones del tallo, plantas sombreadas o del Exp1 ver Figura A.1 del Anexo. Escala de desarrollo: flor abierta (A), vaina <1 cm (P_0), vaina de 1 a 2 cm (P_1) o vaina de 2 a 3 cm (P_2), vaina de 3 a 4 cm (P_3), vaina de 4 a 5 cm (P_4), vaina >5 cm (P_5) y vaina con granos >3 mm (BF).

En los racimos primarios y laterales de los nudos basales y centrales, la extensión del fotoperíodo aumentó significativamente la duración de la fase *lag* desde 3 a 23 días termales, según la magnitud de la extensión fotoperiódica y la posición en el tallo (Cuadro 3.2). La misma tendencia fue observada en los nudos apicales, pero no fue estadísticamente significativa. La prolongación de la fase *lag* de vainas en respuesta al fotoperíodo fue mayor en los nudos basales en comparación con los centrales y mayor en los racimos primarios en comparación con los laterales. El sombreado también

prolongó la fase *lag* en los nudos basales y centrales, pero sólo en los racimos primarios.

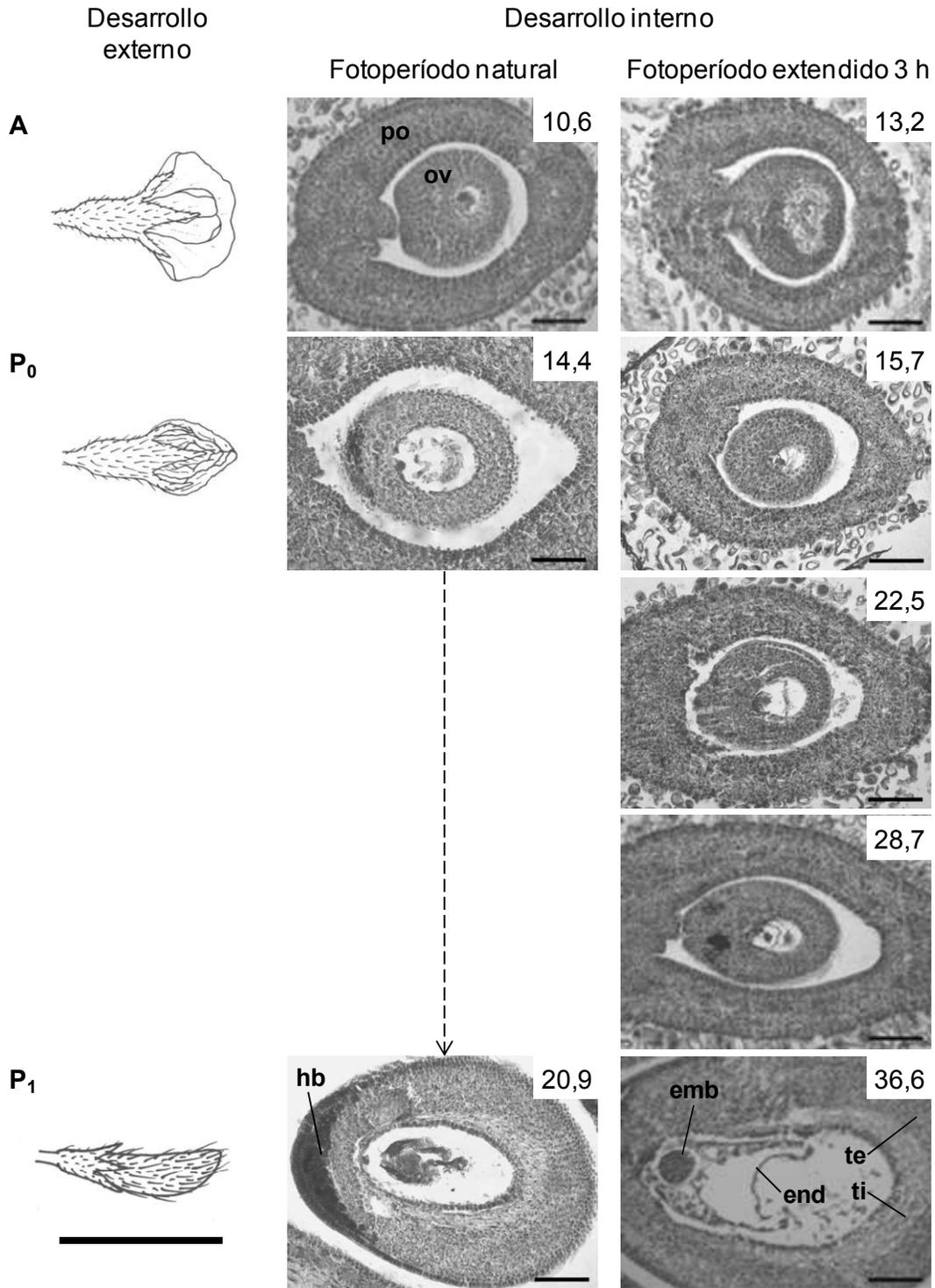
Cuadro 3.2. Duración promedio de la fase *lag* (en días termales) de la primera vaina del racimo primario o lateral en nudos basales, centrales y apicales del tallo principal. Efectos menores y mayores de tratamientos de fotoperíodo y radiación en combinación factorial en ambos experimentos y nivel de significancia de los efectos fijos estimados.

	Nudos Basales		Nudos Centrales		Nudos Apicales†
	Racimo Primario	Racimos Laterales	Racimo Primario	Racimos Laterales	Racimo Primario
No sombreado					
Control	19,09 d	8,85 b	10,63 d	8,62 c	10,48 a
1,5 h	30,16 c	19,10 a	20,32 bc	14,12 bc	12,27 a
3 h	38,35 b	25,64 a	26,17 ab	21,34 a	14,43 a
Sombreado					
Control	19,94 d	8,29 b	12,65 cd	14,34 bc	9,53 a
1,5 h	40,48 ab	25,06 a	27,83 ab	15,07 bc	14,45 a
3 h	46,84 a	25,72 a	29,19 a	18,40 ab	12,45 a
Control	19,52 C	8,57 B	11,64 B	11,48 B	10,01 A
1,5 h	35,32 B	22,08 A	24,07 A	14,59 B	13,36 A
3 h	42,60 A	25,68 A	27,68 A	19,87 A	13,44 A
No sombreado	29,20 B	17,86 A	19,04 A	14,70 A	12,39 A
Sombreado	35,75 A	19,69 A	23,23 A	15,93 A	12,14 A
Fotoperíodo	***	***	***	***	ns
Radiación	***	ns	*	ns	ns
Fot.*Rad.	ns	ns	ns	ns	ns

† El modelo no pudo estimarse para los racimos laterales de los nudos apicales porque en muchas situaciones no hubo vainas en esta posición.

No significativo (ns), $p < 0,1$ (*), $p < 0,05$ (**), $p < 0,01$ (***). Letras diferentes dentro de una columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) de acuerdo al test de comparación de medias LSD Fisher. Letras minúsculas diferencian los efectos menores de la combinación factorial de los tratamientos y letras mayúsculas diferencian los efectos mayores del fotoperíodo o la radiación separadamente.

En sucesivas observaciones microscópicas durante la fase *lag* y elongación de vainas se observó que en cada estado de desarrollo externo (A, P₀, P₁, P₂, P₃, P₄ y BF), el estado de desarrollo del embrión era similar en tratamientos de fotoperíodo natural y extendido 3 h, independientemente de la edad cronológica de la vaina (Figura 3.4). El embrión alcanzó el estado “globular” (como fue ilustrado por Carlson y Lersten, 2004) cuando la vaina alcanzó 1 cm de longitud independientemente del tiempo transcurrido desde su floración. Cuando las vainas alcanzaron los 2 cm, los embriones estaban en el estadio “corazón” (como fue ilustrado por Carlson y Lersten, 2004) bajo fotoperíodo natural y extendido, independientemente de la duración de la fase *lag*. Estos resultados indican que tanto el desarrollo de las vainas como el de los embriones se retrasaron bajo fotoperíodo extendido y que el desarrollo interno del óvulo y el embrión guardan una relación estrecha con el desarrollo (o elongación) de la vaina.



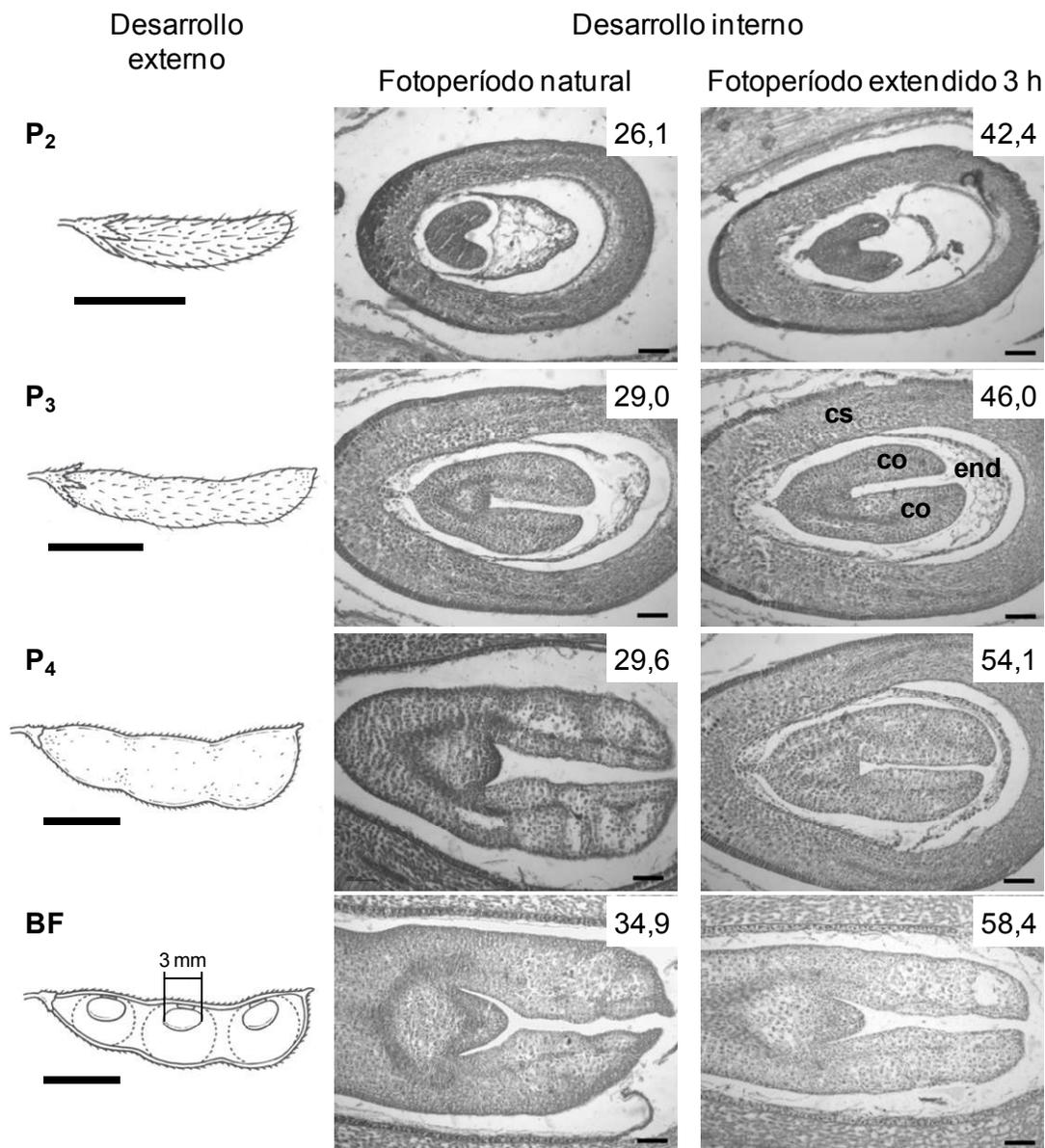


Figura 3.4. Desarrollo externo e interno del primer órgano reproductivo del racimo primario en un nudo central del tallo principal de plantas no sombreadas bajo fotoperíodo natural o extendido 3 h en el Exp2. Secciones transversales de órganos reproductivos en distintos estados de desarrollo: flor abierta (A), vaina <1 cm (P₀), vaina de 1 a 2 cm (P₁) o vaina de 2 a 3 cm (P₂), vaina de 3 a 4 cm (P₃), vaina de 4 a 5 cm (P₄) y vaina con granos >3 mm (BF). En las plantas bajo fotoperíodo extendido 3 h, vainas en la categoría P₀ fueron muestreadas sucesivamente cada una semana hasta que alcanzaron el siguiente estado de desarrollo (P₁). Los números en la esquina superior derecha de cada fotografía son los días termales después de R1 en los que se alcanzó dicho estado de desarrollo. Barra de escala para dibujos de desarrollo externo = 1 cm. Barra de escala para fotografías de desarrollo interno = 100 μm. po, pared del ovario; ov, ovario; hv, haces vasculares; emb, embrión; end, endosperma; te, tegumento externo; ti, tegumento interno; cs, cubierta seminal; co, cotiledón.

3.3.4. Relación entre el desarrollo y número final de vainas

La extensión del fotoperíodo aumentó el número de vainas en posiciones usualmente dominadas dentro del nudo (racimos laterales) y retrasó la elongación de las vainas en posiciones dominantes (racimos primarios). La asociación entre estos dos procesos se analizó mediante dos análisis de sendero: uno para las vainas del racimo principal y otro para las vainas del racimo lateral. En la Figura 3.5 se presenta un esquema de los dos análisis de sendero que incluye en la parte superior la correlación entre las variables componentes del análisis (duración de la floración y número de flores abiertas en cada racimo). La duración de la fase *lag* de vainas y la duración de la floración estuvieron correlacionadas entre sí y también con el número de flores producidas en cada racimo. Sorprendentemente, la correlación del número de flores con la duración de la fase *lag* fue mayor que su correlación con la duración de la floración. De hecho, dentro de cada nudo, la floración terminó en el momento en que comenzó el llenado efectivo de granos (datos sólo disponibles para el Exp2) ya que la recta de regresión ajustada a estas fechas (Figura 3.6) no fue significativamente diferente de la recta identidad (intervalo de confianza 95%: 0,84 a 1,30).

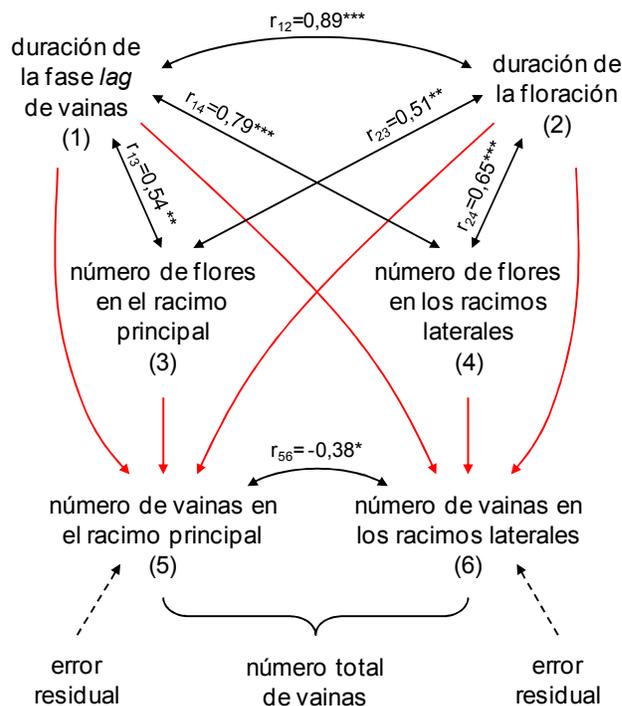


Figura 3.5. Diagramas de sendero mostrando relaciones causales entre: el número de vainas en el racimo principal (5) y los racimos laterales (6) y las variables componentes: duración de la fase *lag* de vainas (1), duración de la floración (2) y número de flores en el racimo principal (3) y los laterales (4). Todas las variables están expresadas a nivel de nudo e incluyen datos de los nudos basales, centrales y apicales de ambos experimentos. Las flechas dobles negras representan asociaciones mutuas entre variables (subíndices) estimadas a partir del coeficiente de correlación (r) y las flechas simples rojas representan influencias directas estimadas a partir de los coeficientes de sendero. Los valores de correlación (r) entre cada variable componente y la variable respuesta se presentan en el Cuadro 3.3. Además, se muestra la correlación entre ambas variables respuestas. valor- r significativo con una probabilidad de *0,05 , $^{**}0,01$ ó $^{***}0,001$ ($n=30$).

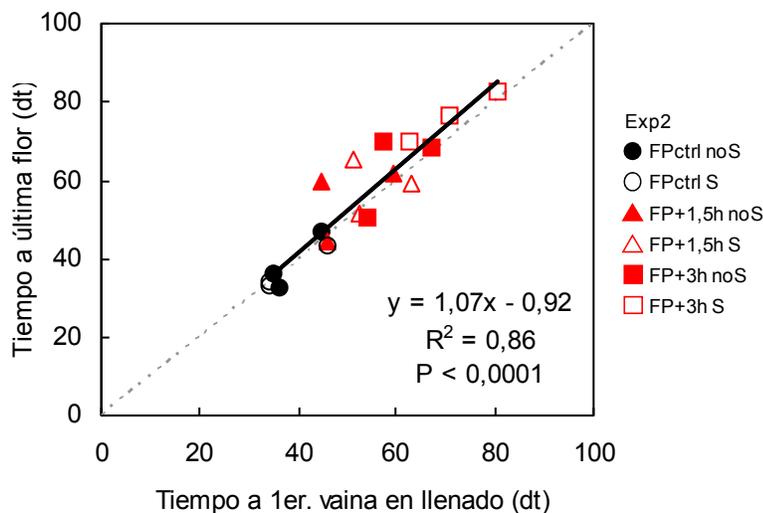


Figura 3.6. Relación entre el tiempo (en días termales) a última flor y el tiempo a primera vaina en llenado efectivo (granos >3 mm) en nudos basales, centrales y apicales del tallo principal de plantas bajo una combinación factorial de tratamientos de fotoperíodo y radiación en el Exp2.

La correlación entre cada variable componente (duración de la floración y número de flores abiertas) y la variable respuesta (número de vainas) del análisis de sendero para cada racimo se presenta en el (Cuadro 3.3), junto con la descomposición de dicha correlación en el efecto directo de dicha variable componente y el indirecto (a través de otra variable componente).

No se encontró una correlación significativa entre el número de flores y vainas en el racimo primario (Cuadro 3.3). Sin embargo, el número de vainas estuvo negativamente correlacionado con la duración de la floración y la fase *lag* de vainas. Estas correlaciones fueron bajas pero significativas y provocaron el importante efecto directo negativo de la duración de la fase *lag* sobre el cuaje de vainas en el racimo primario.

Cuadro 3.3. Coeficientes de sendero directos e indirectos de la duración de la fase *lag* de vainas y la floración (días termales) y el número de flores por nudo sobre el número de vainas en el racimo primario y laterales. Coeficientes de correlación y valor-P de la correlación entre las tres variables involucradas en el establecimiento de vainas.

Variable	Efecto directo sobre el número de vainas	Efecto indirecto sobre el número de vainas			Correlación (r) con el número de vainas	valor-P
		duración de la fase <i>lag</i> (dt)	duración de la floración (dt)	número de flores (nudo ⁻¹)		
Racimo primario						
duración de la fase <i>lag</i>	-0,75	-	0,08	0,09	-0,59	0,0007
duración de la floración	0,09	-0,67	-	0,08	-0,50	0,0048
número de flores	0,16	-0,40	0,04	-	-0,20	0,2940
Racimos laterales						
duración de la fase <i>lag</i>	0,17	-	0,32	0,39	0,88	<0,0001
duración de la floración	0,36	0,15	-	0,32	0,83	<0,0001
número de flores	0,49	0,13	0,23	-	0,86	<0,0001

Diferentemente, en los racimos laterales se encontró una correlación alta y significativa entre las tres variables componentes del análisis (duración de la fase *lag* de vainas, duración de la floración y el número de flores) y el número de vainas (Cuadro 3.3). El número de flores tuvo una alta correlación con el número de vainas en los racimos laterales que se debió principalmente a su efecto directo. La duración de la floración también tuvo una alta correlación con el número de vainas en los racimos laterales que se debió a su efecto directo y a su efecto indirecto a través del número de flores. La duración de la fase *lag* tuvo la correlación más alta con el número de vainas en los racimos laterales, mayormente por sus efectos indirectos a través de la duración de la floración y el número de flores.

Dado el efecto negativo de la duración de la fase *lag* sobre el establecimiento de vainas en el racimo primario y el opuesto efecto positivo en el racimo lateral, se esperaba encontrar una correlación negativa entre el número de vainas en el racimo primario y los laterales; sin embargo, esta correlación fue baja (Figura 3.5). El número total de vainas por nudo estuvo altamente correlacionado con el número de vainas en los racimos laterales ($r=0,86$, $p<0,01$) y pobremente correlacionado con el número de vainas en el racimo primario ($r=0,14$, $p=0,45$). Aunque dentro de un nudo, hubo generalmente más vainas en el racimo primario que en los racimos laterales (67% vs. 33%, respectivamente), el número de vainas en el racimo primario fue menos afectado por los tratamientos que en los racimos laterales (rango explorado: 0,4 a 2,0 vs. 0,0 a 3,2). El fotoperíodo afectó el número de vainas en los racimos laterales a través de su efecto sobre el desarrollo individual de vainas (fase *lag*).

3.4. Discusión

Los resultados de este capítulo indican que la extensión del fotoperíodo durante post-floración alteró las dinámicas de floración y fructificación, resultando en un aumento del número de vainas en los racimos laterales en algunos nudos del tallo principal (Figura 3.2 y Cuadro 3.1). El número de vainas en los racimos laterales aumentó cuando el fotoperíodo fue extendido porque (i) se abrieron más flores y (ii) cuajaron más vainas en esos racimos. La extensión del fotoperíodo también retrasó la elongación individual de vainas y el inicio del llenado efectivo de granos (Figura 3.3 y Figura A.1 del Anexo), que comenzó una vez que las vainas alcanzaron su máxima longitud. Por lo tanto, parece haber una relación funcional entre la producción de un mayor número de flores en los racimos laterales, la extensión del período de floración y el retraso del llenado efectivo de granos en el racimo primario que se encuentra en el mismo nudo (Figura 3.5, Figura 3.6 y Cuadro 3.3). Estas asociaciones y posibles efectos fotoperiódicos sobre el desarrollo de vainas que podrían aumentar el número de granos a nivel de nudo, son un hallazgo novedoso sustentado por muchos resultados del presente capítulo.

En estos experimentos, el sombreado desde floración en adelante sólo redujo la producción de flores y el cuaje de vainas en los nudos basales, y estos efectos se diluyeron a nivel de planta (Figura 3.2 y Cuadro 3.1). Previamente, Jiang y Egli (1993) también observaron que reducciones del 30% de la radiación incidente —similares a las producidas en estos experimentos— no redujeron el número de flores por nudo y vainas por planta mientras que sombreados del 63% redujeron el número de vainas por planta producto de un menor número de flores por nudo y mayores abortos de flores y vainas.

Las plantas bajo fotoperíodo extendido tuvieron más vainas por nudo en su tallo principal como fue reportado previamente (Guiamet y Nakayama, 1984a; Kantolic y Slafer, 2001; Morandi *et al.*, 1988). Un análisis más detallado a nivel de nudo en

distintas posiciones del tallo principal presentado en este capítulo reveló que la magnitud y significancia del efecto fotoperiódico fue variable en distintas posiciones del tallo principal (Figura 3.2 y Cuadro 3.1) como reportaron recientemente Kantolic *et al.* (2013). Además, se encontró una marcada diferencia entre el efecto fotoperiódico sobre los racimos primarios y laterales que, según mi saber, no ha sido reportada aún. En las posiciones del tallo que florecieron primero, la extensión del fotoperíodo redujo el número de vainas en el racimo primario pero este efecto fotoperiódico negativo fue generalmente compensando por un efecto positivo sobre el número de vainas en los racimos laterales (Figura 3.5). Este efecto negativo en el racimo primario podría estar relacionado con su fase *lag* extremadamente prolongada (las vainas demoraron entre 1 y 2 meses en comenzar su elongación, ver Figura A.1 del Anexo) durante la cual las flores o pequeñas vainas, que todavía son susceptibles al aborto, pueden haber sido expuestas a las adversidades del ambiente. Estos resultados sugieren la existencia de un compromiso entre el establecimiento de vainas en posiciones dominantes y dominadas para maximizar la producción de vainas a nivel de nudo.

El efecto fotoperiódico sobre el número de vainas en los racimos laterales estuvo asociado a aumentos en el número de flores abiertas y el cuaje de vainas (Figura 3.5 y Cuadro 3.3). Van Schaik y Probst (1958) también observaron aumentos en el número de flores por nudo bajo días largos, pero a diferencia de los resultados obtenidos en esta tesis, el cuaje de vainas dependió de la magnitud de extensión fotoperiódica (y de la temperatura). Cuando el fotoperíodo era muy alto (20 h), el efecto negativo del aborto de flores y vainas cancelaba el efecto positivo del aumento del número de flores. Cabe destacar que un fotoperíodo de 20 h está fuera del rango explorado en condiciones agronómicas.

El número de flores abiertas en el racimo primario presentó baja variación al igual que el número de vainas (Cuadro 3.1). En esta tesis, la extensión del fotoperíodo comenzó a partir de R1, cuando termina la diferenciación de primordios florales en los racimos primarios (pero continúa en los racimos laterales) (Saitoh *et al.*, 1998a, , 1999a). Por lo tanto, puede que no se haya observado ningún efecto fotoperiódico sobre el número de flores abiertas en el racimo primario si dicha respuesta está asociada a la diferenciación de primordios florales. Además del mencionado efecto fotoperiódico, Egli y Bruening (2002a) también observaron en nudos aislados, que el número de flores en los racimos primarios es bajo y estable, implicando un período de floración corto, mientras que los racimos laterales tienen un alto potencial para aumentar la duración de la floración y, por lo tanto, producir un alto número de flores por nudo. Por ende, la extensión del período de floración y el aumento del número de flores a nivel de nudo, parecen depender de los racimos laterales. Sin embargo, generalmente sólo una pequeña parte del potencial de los racimos laterales es utilizado (Gai *et al.*, 1984; Jiang y Egli, 1993), probablemente porque las flores de los racimos laterales son destinos “débiles”, normalmente dominados por las vainas más grandes y tempranas del racimo primario.

A nivel de planta, se encontró una relación lineal positiva entre la duración de la floración y el número de flores cuando se manipuló el fotoperíodo (Summerfield *et al.*, 1998; van Schaik y Probst, 1958). Bajo fotoperíodo natural, Dybing (1994) encontró que el número total de flores estuvo más relacionado con la tasa de floración que con su duración. A nivel de nudo, los resultados de esta tesis también confirman la relación positiva entre la duración de la floración y el número de flores abiertas (Figura 3.5 y Cuadro 3.3), revelando que las plantas bajo fotoperíodos largos tienen floraciones largas no sólo porque tienen más nudos, sino también porque la floración se prolonga en cada nudo. Además, se encontró que la floración se prolongó debido a la aparición de flores en los racimos laterales. Desafortunadamente, Dybing (1994) —que encontró una débil

relación entre la duración de la floración y el número de flores—, no contó las flores producidas en los racimos laterales.

En cada nudo, la floración fue prolongada en coincidencia con el retraso del desarrollo de las vainas bajo días largos (Figura 3.6). La última flor del nudo (ubicada en un racimo lateral) se abrió el mismo día que comenzó el llenado efectivo de granos en dicho nudo. Egli y Bruening (2002b) también observaron esta asociación entre el final de la floración y el comienzo de la etapa lineal del llenado de granos en nudos aislados de soja. Esta coincidencia fue atribuida a la competencia entre destinos, ya que cuando las semillas entran en la etapa lineal de crecimiento y acumulan asimilados a tasa máxima, se convierten en un destino muy fuerte que podría limitar la floración (Spaeth y Sinclair, 1984). Coincidentemente, se ha encontrado que las jerarquías establecidas a nivel de nudo causan la inhibición de las flores tardías o pequeñas vainas por parte de las vainas más grandes o que aparecen más temprano (Brun y Betts, 1984; Egli y Bruening, 2002b; Egli y Bruening, 2006a; Egli y Bruening, 2006b; Heitholt *et al.*, 1986a; Huff y Dybing, 1980). El crecimiento simultáneo de vainas de distinta jerarquía (por su posición y edad) fue postulado como un aspecto crítico en la utilización de asimilados (Egli y Bruening, 2002a). Aunque normalmente se producen flores en exceso, la dinámica de producción de flores fue propuesta como un aspecto importante en el complejo proceso de determinación del número de vainas y granos (Egli y Bruening, 2002a; Egli y Bruening, 2002b). Al retrasar el desarrollo de las vainas, los días largos podrían aliviar, o al menos posponer, la interferencia entre vainas dominantes y dominadas.

La inhibición de las flores o vainas tardías por vainas más tempranas o grandes ha sido estudiada previamente y varios mecanismos y señales han sido sugeridos. Huff y Dybing (1980), propusieron que el aborto de flores puede ser causado por inducción hormonal y sugirieron al ácido indolacético como la hormona candidata. El ácido abscísico también podría estar involucrado, ya que tiene un rol inhibitorio sobre la floración (Bernier *et al.*, 1993) y la concentración de ácido abscísico en las semillas aumenta más lentamente y tiene un pico más tarde con tratamientos de interrupción nocturna (Morandi *et al.*, 1990). Futuros trabajos que permitan evaluar la producción y sensibilidad de reguladores de crecimiento bajo condiciones contrastantes de fotoperíodo permitirían mejorar la comprensión de los mecanismos que controlan estas respuestas.

Aunque la interacción entre vainas dominadas y dominantes es evidente, aún no está claro si existe un patrón de floración óptimo en soja (Egli, 2005) ya que tanto floraciones largas (Egli y Bruening, 2000; Kantolic y Slafer, 2001) como floraciones cortas (Egli y Bruening, 2002a) han producido aumentos en el establecimiento de vainas. Dado que el rápido aumento de la utilización de asimilados de las vainas más tempranas las convierte en un destino prioritario y determina el aborto de las flores más tardías o distales, Egli y Bruening (2002a) propusieron una estrategia para aumentar el número de vainas por nudo sincronizando la producción de muchas flores tempranamente que crecerían rápidamente y en conjunto. Sin embargo, en los experimentos de Egli y Bruening (2002a) las “flores sincrónicas” estaban ubicadas en tres nudos distintos alimentados por una única hoja en un sistema de nudos aislados. Por lo tanto, estas “flores sincrónicas” no solo estaban temporalmente separadas de las vainas en activo crecimiento, sino que también estaban espacialmente separadas. Los resultados de esta tesis sugieren otra estrategia para aumentar el número de vainas por nudo basada en la idea propuesta por Egli y Bruening (2002a) pero no a través de una producción sincrónica aumentando la producción de vainas tempranas, sino mediante un desarrollo sincrónico generado por el retraso del crecimiento de las vainas dominantes

(mediante un fotoperíodo largo o un genotipo con alta sensibilidad fotoperiódica). De este modo, también habría más flores al momento de rápido crecimiento de vainas y granos, y también crecerían en conjunto. De hecho, simulaciones recientes con SOYPODP (Egli, 2010b) —un modelo de planta entera que ensambla unidades del modelo SOYPOD (un modelo de nudos de soja Egli, 2015)—, revelaron que prolongar la fase *lag* de crecimiento de vainas aumenta el cuaje y número de vainas por planta. Se sugiere, basándose en los resultados de esta tesis, que el retraso del desarrollo de las vainas que resulta de exponer a las plantas a días largos, aumenta el número potencial de granos a través del escape a la competencia por asimilados o señales desencadenadas durante el crecimiento lineal de vainas y granos.

El efecto fotoperiódico sobre el desarrollo y la competencia entre vainas de distinta jerarquía que se documenta en este capítulo, fue observado en un genotipo de hábito de crecimiento indeterminado. En genotipos determinados, existe una menor superposición de la floración, fructificación e inicio de llenado en distintas posiciones de la planta, en comparación con genotipos indeterminados. Esta menor superposición puede resultar en una mayor o menor competencia entre frutos de distinta jerarquía, según suceda que al crecer simultáneamente aumente la competencia o que al crecer sincrónicamente no se generen distintas jerarquías. En cualquiera caso, sería interesante evaluar si el fotoperíodo puede regular la superposición de etapas en genotipos de hábito determinado, y cuál es el resultado.

El efecto del fotoperíodo en post-floración no fue el mismo las durante distintas etapas de desarrollo de las vainas (Figura 3.3 y Figura A.1 del Anexo). Se mencionó previamente que los días largos retrasaron el llenado de granos, que comienza una vez que las vainas alcanzan su largo y ancho final. La elongación de vainas no comienza inmediatamente después de la floración ya que existe una fase *lag* de vainas que es relativamente extensa en soja comparada con otras legumbres (Zheng *et al.*, 2003). La extensión del fotoperíodo retrasó el inicio de la elongación de vainas, prolongando la fase *lag* de vainas. Retrasar el crecimiento de los frutos, y no la floración, permite que el cultivo continúe generando fuente y destinos por más tiempo. Ya que, cuando comienza el activo crecimiento de los frutos y granos, disminuye partición de fotoasimilados hacia hojas, tallos y raíces. Por otro lado, si se retrasase sólo la floración, al inicio del crecimiento de frutos el cultivo tendría más fuente pero no más destinos, y podría no ser igual de beneficioso.

Bajo fotoperíodo natural, la duración de la fase *lag* de vainas varió según la ubicación de la vaina dentro del nudo o la planta (nudos basales>centrales>apicales, racimo primario>laterales; Figura 3.3 y Figura A.1 del Anexo), siendo mayor en las posiciones de la planta que florecieron más temprano. Zheng *et al.* (2003; 2004) también encontraron que la fase *lag* de vainas es menor en los racimos laterales que en el primario. El efecto fotoperiódico sobre de la fase *lag* de vainas fue mayor en aquellas vainas que ya tenían una fase *lag* prolongada de acuerdo a su posición en el nudo y el tallo. Dado que el fotoperíodo natural disminuye a medida que avanza la estación de crecimiento (y por lo tanto el fotoperíodo extendido también), cuando las flores más tardías se abrieron el fotoperíodo fue menor. La duración de la fase *lag* de vainas se relacionó con el fotoperíodo explorado cuando la flor se abrió pero su posición en el nudo y el tallo también fue importante, ya que las posiciones que florecieron más tarde presentaron menor sensibilidad al fotoperíodo (ver Figura A.2 del Anexo).

La elongación de las vainas luego de su fase *lag* continuó a un ritmo similar en el racimo primario y los laterales en todos los tratamientos de fotoperíodo y radiación (Figura 3.3 y Figura A.1 del Anexo), en línea con lo publicado por Zheng *et al.* (2003)

quien encontró que los días cortos adelantaron la elongación de vainas pero no modificaron la tasa de elongación. Estos resultados observados a nivel de fruto individual están en concordancia con aquellos observados a nivel de planta o cultivo en el Capítulo 2, donde el inicio de la partición de asimilados a las vainas se retrasó pero luego continuó a igual tasa bajo fotoperíodo extendido (Figura 2.4). Dado que la elongación de vainas comenzó más tarde, pero la tasa de elongación no fue afectada por la extensión del fotoperíodo (Figura 3.3), pareciera que la respuesta fotoperiódica está asociada al desencadenamiento de una “señal de elongación” más que a otros procesos relacionados con el crecimiento de las vainas. Esta suposición está apoyada en las observaciones microscópicas de embriones en desarrollo bajo distintos niveles de fotoperíodo (Figura 3.4), que revelan que el desarrollo interno del embrión (que requiere un baja demanda de asimilados) está ligado al desarrollo externo de la vaina (que requiere una alta tasa de acumulación de biomasa en las paredes de la vaina) independientemente de la edad cronológica de la vaina. Por lo tanto, el fotoperíodo largo prolonga la fase *lag* porque frena el desarrollo de las vainas (o, lo que es igual, no desencadena su elongación) y no porque regula la partición de fotoasimilados a estructuras vegetativas en lugar de reproductivas. Ya que si se debiese a un cambio en la partición de fotoasimilados, la elongación de las vainas podría haberse retrasado (prolongando la fase *lag*) pero no la división y diferenciación celular que requieren pocos fotoasimilados.

Asumiendo que el fotoperíodo dispara una “señal de elongación”, el inicio de la acumulación de biomasa en las vainas y semillas podría ser desacoplado del comienzo de la floración (como sugirieron Thomas y Raper, 1976). Este desacople podría reproducir los efectos fotoperiódicos sobre el establecimiento de vainas y ser utilizado como un rasgo favorable en programas de mejora. Para ello, las “señales de floración y elongación” también deberían ser reguladas independientemente por el fotoperíodo para imitar los resultados obtenidos en esta tesis (en la cual los tratamientos se iniciaron en R1). Algunas evidencias de esta independencia han sido encontradas en otras especies. En *Vigna subterranea* y *Arachis hypogaea*, el fotoperíodo regula el comienzo del crecimiento de vainas pero no el comienzo de la floración (Brink, 1997; Flohr *et al.*, 1990). En papa, la floración y la tuberización están fotoperiódicamente reguladas por dos miembros de la familia de genes tipo FT que responden a diferentes factores del ambiente (Navarro *et al.*, 2011). Estas evidencias sugieren que la floración y el crecimiento de vainas en soja también podrían ser regulados independientemente, o al menos en forma parcialmente independiente, por el fotoperíodo.

En conclusión, los resultados de este capítulo sugieren que los días largos durante post-floración aumentan el número de vainas por nudo a través del mecanismo de atenuación de la interferencia entre vainas de distinta jerarquía. El efecto fotoperiódico sobre el desarrollo de las vainas dominantes, *i. e.* retrasar su elongación y posponer su crecimiento activo, prolonga la floración y permite que se establezcan más vainas en posiciones usualmente dominadas. Aún quedan algunas preguntas sin responder acerca de la naturaleza de la interacción entre vainas dominantes y dominadas; en este contexto, parece fundamental discriminar si los días largos alteran la competencia por asimilados entre vainas de distinta jerarquía o remueven algún tipo de inhibición química.

4. Variabilidad genotípica en líneas casi-isogénicas (NIL) y genotipos comerciales de soja para los mecanismos de respuesta fotoperiódica en post-floración

4.1. Introducción

La soja puede crecer en un amplio rango de latitudes, desde 50° N a 35° S (Watanabe *et al.*, 2012). Esta amplia adaptabilidad se debe a variaciones en los genes mayores y QTL (por sus siglas en inglés *quantitative trait loci*) que controlan el tiempo a floración y madurez. Hasta el momento, se conocen 9 *loci* de genes mayores, pertenecientes a la denominada serie *E*, que interactúan con el fotoperíodo —y junto con el *locus* juvenil *J* (Ray *et al.*, 1995)— controlan el tiempo a floración y madurez. Dichos *loci* son: *E1* y *E2* (Bernard, 1971); *E3* (Buzzell, 1971); *E4* (Buzzell y Voldeng, 1980); *E5* (McBlain y Bernard, 1987); *E6* (Bonato y Vello, 1999); *E7* (Cober y Voldeng, 2001); *E8* (Cober *et al.*, 2010) y *E9* (Kong *et al.*, 2014). En general, los alelos dominantes de estos genes retrasan la floración y el momento de la madurez fisiológica y los alelos recesivos otorgan insensibilidad al fotoperíodo y adelantan la floración y madurez (excepto en los *loci J*, *E6* y *E9*). Dicho efecto aumenta en la medida que el fotoperíodo supera un umbral. La aditividad y epistasia entre los alelos ha sido descrita en la literatura (Cober *et al.*, 1996b; Summerfield *et al.*, 1998), de modo que, en general, un mayor número de alelos *E* dominantes confiere mayor sensibilidad fotoperiódica. Además, se han mapeado distintos QTL asociados al tiempo a floración y madurez y muchos de esos QTL han sido vinculados a los genes mayores de la serie *E* por su ubicación en el genoma (ver reseña de Watanabe *et al.*, 2012; Xia *et al.*, 2012a).

En los últimos años, con la secuenciación del genoma de soja (Kim *et al.*, 2010; Schmutz *et al.*, 2010) y los avances en biotecnología (www.soybase.org), se ha propuesto o redefinido la función biológica de la mayoría de los genes mayores *E*. El gen *E1* codifica para una proteína que contiene una supuesta señal de localización nuclear bipartita y una región relacionada con el dominio B3, un dominio altamente conservado encontrado en factores de transcripción en las plantas (Xia *et al.*, 2012b). *E1* parece ser un gen específico de las leguminosas ya que no tiene ortólogos en *Arabidopsis* ni arroz, sin embargo está relacionado con la subfamilia RAV de proteínas de dominio B3 que incluyen los genes *TEMPRANILLO* de *Arabidopsis* que son represores de la proteína FT del gen *FLOWERING LOCUS T (FT)* a nivel de transcripción (Weller y Ortega, 2015). Se sugiere que el gen *E2* es *GmGla*, un ortólogo del gen *GIGANTEA (GI)* de *Arabidopsis* (Watanabe *et al.*, 2011). En *Arabidopsis*, la expresión de *GI* está regulada por el reloj circadiano y regula la expresión del gen *FT* por vías dependientes e independientes de *CONSTANS (CO)* (Huq *et al.*, 2000; Sawa y Kay, 2011). El producto de *FT* es la proteína FT que funciona como florigeno (Corbesier *et al.*, 2007); es decir, como la señal que se produce en las hojas y desencadena la floración en los meristemas. Si bien *Arabidopsis* es una planta de día largo y la soja es una planta de día corto, las proteínas tipo-FT representan una señal inductora de la floración ampliamente difundida en distintas especies; en cambio, los mecanismos que controlan la transcripción de los genes tipo-FT son los que difieren entre especies y generan las distintas respuestas al fotoperíodo (Andrés y Coupland, 2012). Los genes *E3* y *E4* codifican para las proteínas de fitocromo A (PHYA) *GmPHYA3* y *GmPHYA2*, respectivamente (Liu *et al.*, 2008; Watanabe *et al.*, 2009). El gen *E4* está involucrado en la respuesta a la luz con baja relación R:RL y *E3* se relaciona con la respuesta a la luz con alta o baja relación R:RL (Cober *et al.*, 1996a). *E1*, *E2*, *E3* y *E4* controlan la expresión de *GmFT2a* y/o *GmFT5a* (Kong *et al.*, 2010;

Thakare *et al.*, 2011; Watanabe *et al.*, 2011), dos homólogos de *FT*. Se sugiere que el gen *E9* podría ser *GmFT2a* o *GmFT2b* por su ubicación en el genoma (Kong *et al.*, 2014). Por otro lado, el gen *E8* podría ser, debido a su ubicación en el genoma, *GmCRY1a* (Cheng *et al.*, 2011) controlando la producción de criptocromos que también intervendrían en la regulación fotoperiódica de la floración en soja (Zhang *et al.*, 2008). La soja posee más de un ortólogo para la mayoría de los genes involucrados en la floración en *Arabidopsis*, que pueden o no ser redundantes entre sí, dando como resultado respuestas a la floración más complejas y diversas (Watanabe *et al.*, 2012). En la Figura 4.1 se presenta un modelo de respuesta al fotoperíodo en pre y post-floración, construido a partir de algunas de las funciones e interacciones entre alelos y genes comentadas anteriormente.

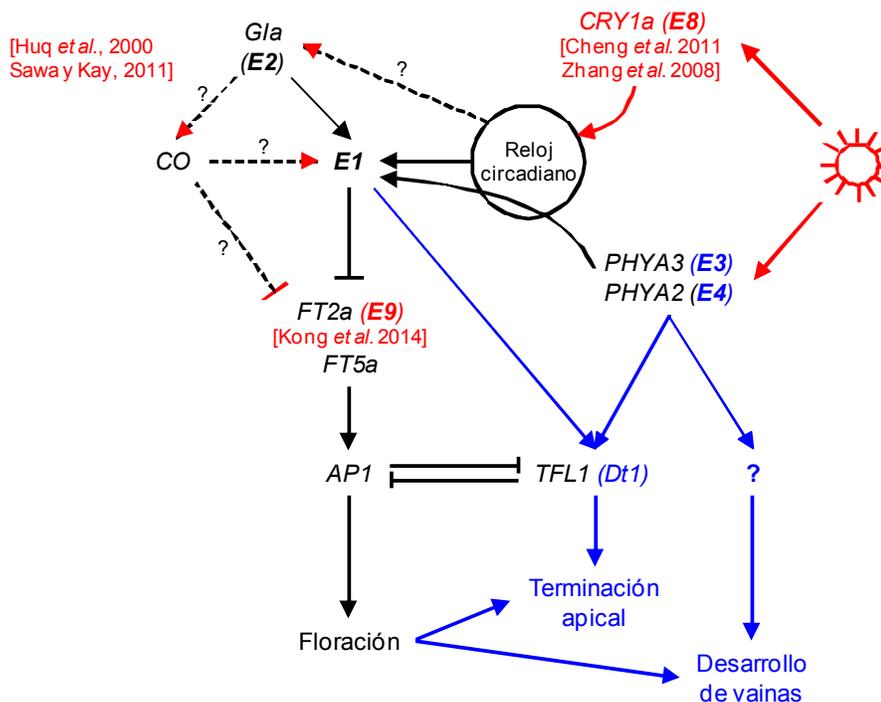


Figura 4.1. Control genético de la respuesta fotoperiódica pre y post-floración en soja. Modelo construido a partir de los modelos propuestos por Xia *et al.* (2012a) (negro) y Xu *et al.* (2013) (azul) para los alelos *E1*, *E3* y *E4* y resultados de otros trabajos (rojo) (Cheng *et al.*, 2011; Huq *et al.*, 2000; Kong *et al.*, 2014; Sawa y Kay, 2011; Zhang *et al.*, 2008).

En las colecciones de germoplasma del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) y el de Canadá, se encuentran disponibles líneas casi-isogénicas (NIL, por sus siglas en inglés *Near Isogenic Lines*) de soja con combinaciones alélicas de la serie *E* en los fondos genéticos de Harosoy (grupo de madurez II) y Clark (grupo de madurez IV). En dichas líneas se han mapeado y desarrollado marcadores ligados a los loci *E1* y *E3* (Cregan *et al.*, 1999; Molnar *et al.*, 2003), *E2* (Cregan *et al.*, 1999), *E4* (Abe *et al.*, 2003; Matsumura *et al.*, 2008; Molnar *et al.*, 2003), *E7* (Molnar *et al.*, 2003) y *E8* (Cober *et al.*, 2010).

La sensibilidad fotoperiódica post-floración de algunas de estas NIL ha sido estudiada en parcelas a campo (Cober *et al.*, 1996b; McBlain *et al.*, 1987; Pallikonda, 2006; Wilcox *et al.*, 1995; Xu *et al.*, 2013), macetas en invernáculos (Asumadu *et al.*, 1998; Summerfield *et al.*, 1998) y cámaras de cultivo (Cober *et al.*, 1996b; McBlain *et al.*,

al., 1987); con distintas fechas de siembra (McBlain *et al.*, 1987; Zhang *et al.*, 2001) o extensiones artificiales del fotoperíodo (Cober *et al.*, 1996a; Ellis *et al.*, 2000; Xu *et al.*, 2013). La mayoría de estos trabajos se ha centrado sólo en la fenología y la duración de las subetapas reproductivas (Cober *et al.*, 1996b; Cober *et al.*, 2001; Kumudini *et al.*, 2007; McBlain *et al.*, 1987; Zhang *et al.*, 2001) y ha encontrado que un mayor número de alelos *E* dominantes confiere mayor sensibilidad fotoperiódica y prolonga la etapa post-floración. Algunos trabajos han descrito atributos agronómicos que son afectados por las distintas composiciones alélicas de las NIL tales como altura, número de nudos, susceptibilidad del vuelco (Cober y Morrison, 2010; Wilcox *et al.*, 1995; Xu *et al.*, 2013), número de flores por planta (Summerfield *et al.*, 1998; Wilcox *et al.*, 1995), índice de cosecha, duración y tasa de llenado de granos (Curtis *et al.*, 2000), eficiencia en el uso de la radiación (Ellis *et al.*, 2000), senescencia (Pallikonda, 2006), rendimiento (Cober y Morrison, 2010; Curtis *et al.*, 2000; Ellis *et al.*, 2000; Pallikonda, 2006) y composición química de las semillas (Bellaloui *et al.*, 2009). La mayoría de estos trabajos ha relacionado el rendimiento de las NIL con la duración de las etapas del ciclo y ésta última con la cantidad de alelos *E* dominantes. Sería interesante determinar si la presencia de algún alelo específico o la percepción y/o sensibilidad fotoperiódica de las diferentes NIL controla directamente la generación de rendimiento o si las diferencias se deben a la exploración de distintos ambientes u oferta de recursos debido a las diferencias ontogénicas entre NIL. Además, el descubrimiento reciente de la función biológica de varios de los alelos *E* podría permitir ahondar en los mecanismos ecofisiológicos y fisiológicos que gobiernan dichas respuestas.

En los capítulos anteriores se describieron mecanismos directos e indirectos por los cuales el fotoperíodo reguló la generación del rendimiento en un único genotipo de soja. Por un lado, se encontró que la distribución espacial (Capítulo 2) y temporal (Capítulo 3) de los destinos es directamente afectada por el fotoperíodo y define mecanismos mediante los cuales se produce un mayor número de granos bajo condiciones de día largo en post-floración. Parte de los resultados de dichos capítulos han sido publicados en Nico *et al.* (2015; 2016). Estas respuestas son adicionales a los efectos indirectos del fotoperíodo, que están asociados al aumento de la oferta de los recursos por la prolongación del ciclo (Capítulo 1). Estas respuestas fueron estudiadas en un único genotipo y con manipulaciones artificiales del fotoperíodo. Para que estos hallazgos puedan ser utilizados como herramientas para mejorar el rendimiento en soja, debería detectarse si existe alguna composición genética que, en determinado ambiente fotoperiódico, exprese los mecanismos que promueven la fijación de vainas analizados en los capítulos anteriores de esta tesis. Si el desarrollo individual de flores y frutos y/o las interacciones entre órganos reproductivos que crecen en un mismo nudo difiriesen en NIL con distinta combinación de alelos *E*, se podrían incorporar estos mecanismos fácilmente en los programas de mejoramiento. En este capítulo se analizará la variabilidad genotípica en NIL y genotipos comerciales de soja liberados recientemente al mercado argentino, para dichos mecanismos. Se analizarán estas respuesta en diferentes condiciones fotoperiódicas naturales (generadas por cambios en la fecha de siembra) y bajo disponibilidades de radiación contrastantes.

4.2. Materiales y métodos

4.2.1. Cultivo

Se realizaron dos experimentos durante las campañas 2010/11 (denominado “Exp3” en el contexto de esta tesis) y 2011/12 (“Exp4”) en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (34°35’S, 58°29’O). Las semillas fueron inoculadas con *Bradyrhizobium* y sembradas a muy alta densidad en parcelas a campo. Cuando las hojas unifoliadas se expandieron, las parcelas fueron raleadas a mano para obtener un cultivo uniforme de 40 plantas por m². Las parcelas consistieron en 6 surcos de 2,5 m de largo distanciados a 0,35 m entre sí. Las plagas y enfermedades fueron controladas siguiendo prácticas agronómicas locales. Las malezas fueron controladas con imazetapir (PivotH ®, Basf Argentina) en pre-emergencia o manualmente en post-emergencia. Las precipitaciones fueron complementadas con riego por goteo. Las plantas fueron atadas para prevenir su vuelco cuando fue necesario.

4.2.2. Tratamientos

Los tratamientos consistieron en la combinación factorial de dos fechas de siembra, dos niveles de sombra aplicados desde el principio de floración (R1 según Fehr y Caviness, 1977) en adelante y nueve o doce genotipos distintos según el experimento.

Se utilizaron dos fechas de siembra (FdeS): la primera FdeS fue durante la segunda quincena de noviembre y la segunda FdeS durante fines de diciembre y principios de enero. El objetivo de estas fechas de siembra fue que los genotipos explorasen un fotoperíodo promedio similar en pre-floración (antes o después del solsticio de verano) y diferente en post-floración: más largo en la 1ra. FdeS (al ocurrir ésta enseguida después del 21 de diciembre) y más corto en la 2da. FdeS (al florecer a partir de la segunda quincena de enero). Dentro de cada fecha de siembra, se realizaron siembras escalonadas (desde el 15/11 al 5/12 en la 1ra. FdeS y desde el 19/12 al 15/1 en la 2da. FdeS) para sincronizar la floración de todos los genotipos. Para ello, se estimó la duración de la etapa VE-R1 para cada NIL a partir del modelo propuesto por Stewart *et al.* (2003), la temperatura media diaria del período 1992-2010 y el fotoperíodo diario del sitio experimental.

Modelo fototermal para el desarrollo fenológico de soja propuesto por Stewart *et al.* (2003):

$$D = \sum_{i=1}^N b[(T - T_B)\Delta t - (c - d(T_D - T))(P - P_B)\Delta t] = 1$$

D: Desarrollo ($0 \leq D \leq 1$)

N: número de días entre siembra y floración

b: coeficiente genético asociado a la respuesta a la temperatura ($0,00214 \text{ } ^\circ\text{C}^{-1} \text{ d}^{-1}$)

T: temperatura ($^\circ\text{C}$)

T_B: temperatura base debajo de la cual *T* no afecta el desarrollo [$5,78 \text{ } ^\circ\text{C}$]

Δt: intervalo de tiempo (1 d)

***c*: coeficiente fotoperiódico ($^\circ\text{C h}^{-1}$)**

d: coeficiente genético asociado a la interacción temperatura*fotoperíodo ($0,196 \text{ h}^{-1}$)

T_D: temperatura a la cual no hay interacción entre *T* y *P* [$28 \text{ } ^\circ\text{C}$]

P: fotoperíodo (h)

P_B: fotoperíodo base debajo del cual *P* no afecta el desarrollo [$13,5 \text{ h}$]

T_M: límite superior por encima del cual *T* no afecta el desarrollo [$30 \text{ } ^\circ\text{C}$]

P_M: límite superior por encima del cual *P* no afecta el desarrollo [$17,5 \text{ h}$]

Restricciones:

$$(T - T_B) \geq 0 \quad \text{y} \quad T \leq T_M$$

$$(P - P_B) \geq 0 \quad \text{y} \quad P \leq P_M$$

El tratamiento de radiación incluyó dos niveles: un testigo no sombreado y un tratamiento sombreado a partir de R1 mediante redes comerciales de mediasombra (35% de reducción de radiación, ver su descripción en el Capítulo 2 y fotografía en la Figura 4.2). Se aplicó sólo en la 1ra. FdeS para compensar la oferta más prolongada de radiación que se espera en la 1ra. FdeS respecto a la 2da. FdeS, con reducciones diarias de la oferta de radiación.



Figura 4.2. Vista general del Exp4. Adelante, se observan las parcelas de la 2da. FdeS en distinto estado de desarrollo según el genotipo. Detrás, se observa la 1ra. FdeS en un estado de desarrollo más avanzado, con parcelas no sombreadas y sombreadas y subparcelas con distintos genotipos. Imagen tomada el 4/4/12.

En el Exp3, se sembraron 8 líneas casi-isogénicas con distinta combinación de los alelos *E1*, *E2*, *E3* y *E4* en fondo génico Clark o Harosoy (Cuadro 4.1) y el genotipo comercial NIDERA A 5009 RG (Nidera, Argentina), ya utilizada en los Exp1 y Exp2 de esta tesis. En el Exp4 se agregaron otras 3 genotipos comerciales: NIDERA A 5509RG (Nidera, Argentina), DON MARIO 4670 (Don Mario, Argentina) y DON MARIO 4970 (Don Mario, Argentina). Estos genotipos se escogieron por: i) presentar buena adaptación (por su grupo de madurez) a la estación de crecimiento del sitio experimental, ii) por su amplio uso en la región agrícola pampeana y iii) porque, de acuerdo a resultados de los semilleros, poseen distinta duración relativa de la etapa post-floración en relación al ciclo completo. Todos los genotipos son indeterminados (alelo *Dt1*) (Cuadro 4.1). En cuanto a las NIL, se incluyó un rango amplio de grupos de madurez, cuya sensibilidad fotoperiódica en pre-floración fue cuantificada mediante un coeficiente genético (*c* cuyas unidades son °C h⁻¹, Stewart *et al.*, 2003) asociado al retraso del desarrollo del cultivo cuando el fotoperíodo es mayor a un umbral (*P_B*).

Cuadro 4.1. Detalle de los genotipos. Código de denominación en la tesis, nombre original, fondo genético, grupo de madurez, coeficiente de sensibilidad fotoperiódica pre-floración (c) según Stewart *et al.* (2003) y combinación de alelos del grupo E . El símbolo “?” indica que se desconoce la información.

Código	Nombre original	Fondo genético	Grupo de madurez	c ($^{\circ}\text{C h}^{-1}$)	$E1$	$E2$	$E3$	$E4$	$E5$	$E6$	$E7$	$E8$	$E9$
NIL 1	OT93-28	Harosoy	0	3,158	$E1$	$e2$	$e3$	$e4$	$e5$?	$E7$	$E8$?
NIL 2	OT94-41	Harosoy	0	2,620	$e1$	$e2$	$E3$	$e4$	$e5$?	$E7$	$E8$?
NIL 3	L84-307	Harosoy	II	3,578	$e1$	$E2$	$e3$	$E4$	$e5$?	$E7$	$E8$?
NIL 4	L63-3117	Clark	II	2,984	$e1$	$e2$	$E3$	$E4$	$e5$?	$E7$	$E8$?
NIL 5	L63-2404	Clark	II	3,443	$e1$	$E2$	$e3$	$E4$	$e5$?	$E7$	$E8$?
NIL 6	L80-5914	Clark	III	4,001	$E1$	$e2$	$e3$	$E4$	$e5$?	$E7$	$E8$?
NIL 7	Clark	Clark	IV	3,733	$e1$	$E2$	$E3$	$E4$	$e5$?	$E7$	$E8$?
NIL 8	L64-4584	Harosoy	IV	3,876	$e1$	$E2$	$E3$	$E4$	$e5$?	$E7$	$E8$?
DM4670	DON MARIO 4670	?	IV medio	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
DM4970	DON MARIO 4970	?	IV largo	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
NA5009	NIDERA A 5009 RG	?	V corto	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?
NA5509	NIDERA A 5509 RG	?	V medio	?	?	?	?	?	?	?	?	?	?

4.2.3. Recolección y análisis de datos

La radiación fotosintéticamente activa, diaria e incidente (iRFA) y la temperatura máxima y mínima diaria del aire fueron registradas en una estación meteorológica automática ubicada a 200 m del experimento (Vantage Pro2, Davis Instruments, California, EEUU). La fracción de iRFA interceptada por el canopeo fue estimada como se explicó anteriormente en la sección 2.2.3 del Capítulo 2 al igual que la radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada ($\text{RFA}_{\text{R1-R7}}$ o $\text{RFA}_{\text{VE-R6}}$).

El estado ontogénico fue registrado como se explicó en el Capítulo 2 al igual que los muestreos y el procesamiento de la biomasa aérea en R1, R3, R6 y R7. A partir de un modelo de regresión lineal simple, se estimó la sensibilidad fotoperiódica de cada genotipo como el coeficiente de regresión entre la duración de la etapa (en dt) y el fotoperíodo medio explorado durante dicha etapa. Para estimar la contribución de cada alelo y fondo genético a la respuesta fotoperiódica post-floración, se construyó un modelo de regresión lineal múltiple paso a paso (*Stepwise*).

El número de granos, vainas y nudos totales y reproductivos fue contado separadamente en el racimo primario y los laterales de cada nudo del tallo principal y las ramas en la muestra de R7. Se consideró como nudo reproductivo, a todo aquel nudo que tuviera al menos una vaina a madurez. Los subcomponentes del rendimiento se calcularon como se describió en el Capítulo 2. La eficiencia en el uso de la radiación para producir rendimiento ($\text{EUR}_{\text{R,RFA}}$) fue estimada como el cociente entre el rendimiento y la $\text{RFA}_{\text{R1-R7}}$ (ver Capítulo 2).

Al igual que lo descrito en el Capítulo 3, en R1 se marcaron tres plantas en cada parcela, sólo en los tratamientos no sombreados. En tres nudos consecutivos ubicados en tres posiciones de cada planta se contaron los órganos reproductivos y se agruparon en siete categorías según su estado de desarrollo y longitud de la vaina: A, P₀, P₁, P₂, P₃, P₄ y BF ver su descripción en la sección 3.2.2 e ilustración en la Figura 3.4 del Capítulo 3). El número máximo de flores abiertas, número final de vainas, cuaje, duración de la floración y fase *lag* de vainas se estimó como fue descrito en el Capítulo 3. La tasa de elongación se determinó como el cociente entre 40 mm y los días termales entre P₀ y P₄ (vainas de 0 y 40 mm, respectivamente).

Para algunas variables se estimaron los desvíos con respecto a la media, calculados

como la diferencia entre el valor observado para un genotipo en un ambiente (dado por el experimento, FdeS y tratamiento de radiación) y el promedio de todos los genotipos en ese ambiente (“media ambiental”). El efecto de los tratamientos sobre la producción de nudos y la RFA_{VE-R7} fue estimado como la diferencia entre: la 1ra. y 2da. FdeS para el efecto de la fecha de siembra, los tratamientos no sombreados y los sombreados para el efecto de la radiación, la NIL más y menos sensible al fotoperíodo para el efecto de la sensibilidad fotoperiódica en las NIL y el genotipo comercial más y menos sensible al fotoperíodo para el efecto de la sensibilidad fotoperiódica en los genotipos comerciales.

4.2.4. Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue en bloques con 3 repeticiones y parcela subdividida. El factor “fecha de siembra” no estuvo dentro del diseño en bloques (para facilitar el manejo del ensayo) y por lo tanto sus únicas repeticiones son los dos experimentos. Se tomó esta decisión porque el motivo de la inclusión del factor “fecha de siembra” en la tesis no era comparar las fechas de siembra entre sí, sino comparar la respuesta de las NIL en cada fecha. Los bloques estuvieron anidados en cada FdeS. El factor “radiación” fue asignado al azar a las parcelas principales y estuvo presente sólo en la 1ra. FdeS (anidado), es decir que en la 2da. FdeS todas las parcelas fueron “No sombreadas”. El factor “genotipo” fue asignado al azar a las subparcelas, el mismo tuvo 9 niveles en el Exp3 y 12 en el Exp4. Para las variables determinadas a nivel de planta, el nivel planta fue anidado dentro del bloque.

Se ajustó un modelo lineal mixto a todas las variables medidas y estimadas utilizando el procedimiento *lme* del paquete *nlme* (Pinheiro *et al.*, 2012) de R v 3.1.3 (R Development Core Team, 2015) con el método de máxima verosimilitud restringida. Los factores “FdeS”, “genotipo”, “radiación” y su interacción fueron incluidos como términos fijos del modelo mientras que “experimento”, “bloque” y “planta” fueron considerados términos aleatorios. Las comparaciones de medias se realizaron mediante un procedimiento equivalente a la prueba de LSD Fisher con un nivel de significancia $\alpha=0,05$. El modelo lineal mixto se ajustó desde InfoStat v2015 (Di Rienzo *et al.*, 2015), una interfaz amigable del paquete *nlme* de R.

La relación entre variables fue analizada mediante análisis de regresión simple y múltiple, correlación y sendero utilizando InfoStat v2015 (Di Rienzo *et al.*, 2015). Las variables presentes en el modelo de regresión lineal múltiple fueron retenidas mediante el método de selección paso a paso (*Stepwise*) con un valor-p máximo para entrar y ser retenidas en el modelo de 0,15. Las variables regresoras del modelo original fueron: el fotoperíodo, todos los alelos ($E1$, $E2$, $E3$, $E4$) y el fondo génico, y su interacción con el fotoperíodo.

4.3. Resultados

4.3.1. Condiciones ambientales

Como resultado de ambos experimentos y fechas de siembra, se exploraron distintos ambientes a lo largo del ciclo (Cuadro 4.2). En el Exp3 se logró que el fotoperíodo promedio explorado por todos los genotipos en pre-floración fuese similar en ambas FdeS como era deseado; sin embargo, el retraso de la 2da. FdeS en el Exp4 hizo que en ésta disminuyera el fotoperíodo promedio explorado en pre-floración en relación a la 1ra. FdeS. En ambos experimentos, el fotoperíodo promedio explorado por todos los genotipos en post-floración fue más corto en la 2da. FdeS en comparación con la 1ra. FdeS. La radiación incidente promedio durante post-floración fue un 11-13% mayor en la 1ra. FdeS en comparación con la 2da. FdeS y el tratamiento de sombreado la redujo un 33-37%, como era previsto. Se presentan los valores de temperatura media diaria

explorados en cada ambiente. En la Figura 4.3 se presenta la duración y ubicación en el tiempo de las distintas subetapas del ciclo de cultivo de cada genotipo en ambas fechas de siembra y experimentos.

Cuadro 4.2. Condiciones ambientales. Rango explorado de fotoperíodo, radiación fotosintéticamente activa incidente (iRFA) y temperatura durante la etapa pre-floración (VE-R1) y post-floración (R1-R7).

	Fotoperíodo medio (h)		iRFA media (MJ m ⁻² d ⁻¹)		Temperatura media (°C)	
	VE-R1	R1-R7	VE-R1	R1-R7	VE-R1	R1-R7
Exp3						
1ra. FdeS						
No sombreado	15,33 a 15,38	14,43 a 14,97	11,33 a 11,79	9,88 a 11,04	23,04 a 23,98	24,61 a 25,06
Sombreado	—	—	—	6,61 a 7,43	—	—
2da. FdeS						
No sombreado	15,17 a 15,25	13,67 a 14,17	10,37 a 11,15	9,13 a 9,80	24,40 a 25,21	23,40 a 25,03
Exp4						
1ra. FdeS						
No sombreado	15,28 a 15,43	13,62 a 14,65	10,38 a 11,22	10,13 a 11,33	22,96 a 24,34	22,52 a 25,17
Sombreado	—	—	—	6,37 a 7,17	—	—
2da. FdeS						
No sombreado	14,62 a 14,78	13,02 a 13,43	11,23 a 11,73	9,43 a 9,89	24,96 a 26,06	20,96 a 21,99

4.3.2. Desarrollo del cultivo

Si bien se procuró sincronizar la floración de todos los genotipos, las NIL 1 y 6 florecieron algunos días después que el resto de los genotipos y el genotipo NA5509 floreció entre 1 y 2 semanas después que el resto de los genotipos (Figura 4.3). La duración de la etapa pre-floración fue siempre menor para las NIL 2 y 4 y mayor para la NIL 6 y los genotipos DM4970, NA5009 y NA5509 en comparación con el resto de los genotipos.

La duración de la etapa post-floración estuvo relacionada con la duración pre-floración ($r=0,61$ $p<0,0001$, una única relación para todos los genotipos excepto NA5509 que tuvo una etapa post-floración menor al resto en relación a su etapa pre-floración) pero el ranking de genotipos no fue exactamente igual. La etapa post-floración fue siempre más corta para la NIL 1 y más extensa para la NIL 7 y todos los genotipos comerciales (Figura 4.3). Dentro de la etapa post-floración, el efecto de cada genotipo en las subetapas R1-R3 y R3-R6 fue similar al observado para toda la etapa post-floración. En contraste, el efecto genotípico sobre la duración de la subetapa R6-R7 fue muy variable y errático en comparación con el efecto observado en el resto de la etapa post-floración. La NIL 1 fue prácticamente insensible al fotoperíodo en post-floración. Las NIL 6 y 7 y los genotipos comerciales presentaron la sensibilidad fotoperiódica post-floración más alta (Figura 4.4A).

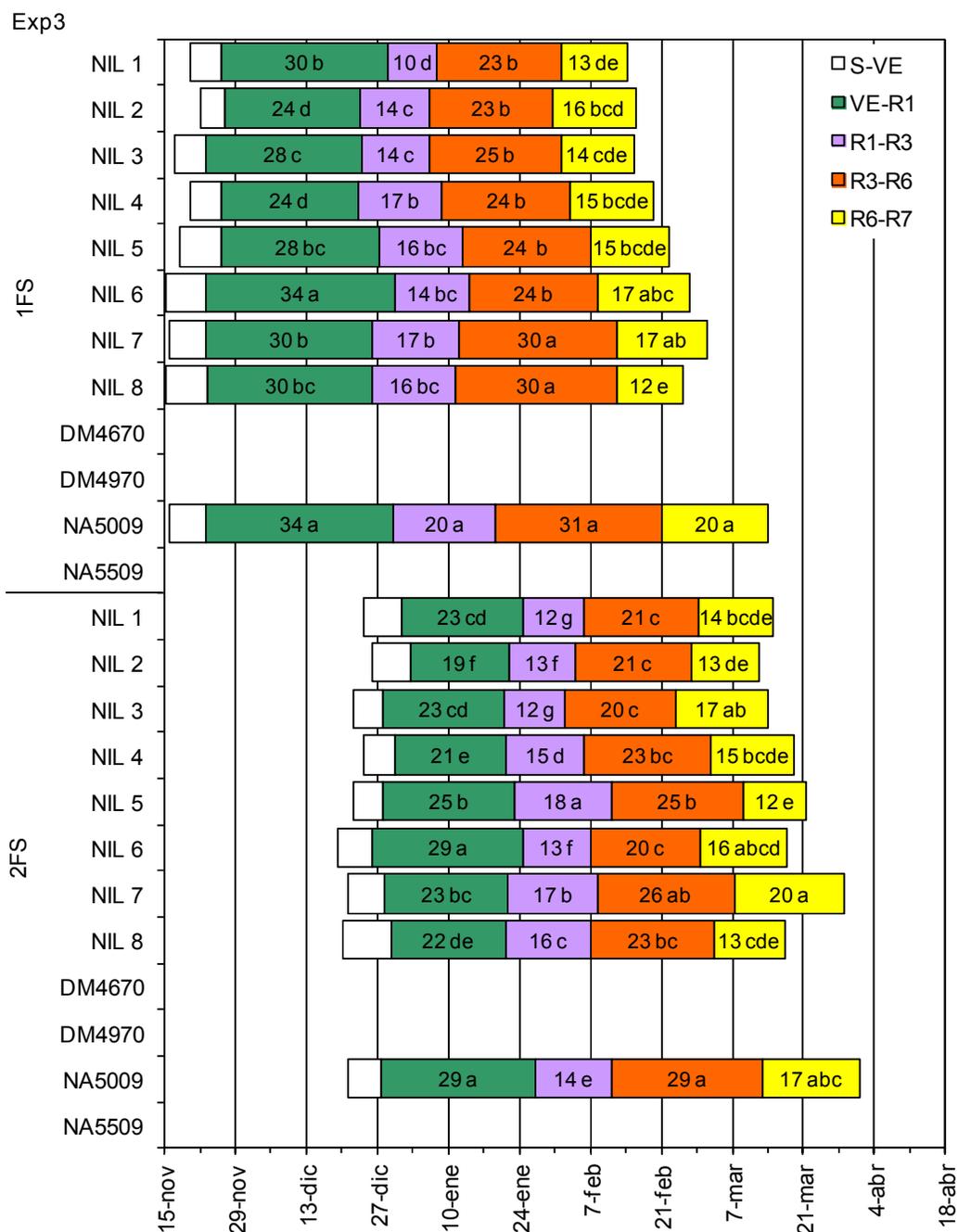


Figura 4.3. Duración de las subetapas del ciclo de cultivo. Ubicación de las subetapas del ciclo del cultivo de cada genotipo durante la estación de crecimiento en la 1FS y 2FS del Exp 3 y Exp 4: siembra-VE (blanco), VE-R1 (verde), R1-R3 (lila), R3-R6 (naranja) y R6-R7 (amarillo). La longitud de las barras representa la duración de cada subetapa en días calendario y el número dentro de cada barra indica la duración de dicha etapa en días termales. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre genotipos dentro de cada fecha de siembra y experimento de acuerdo al test de LSD Fisher.

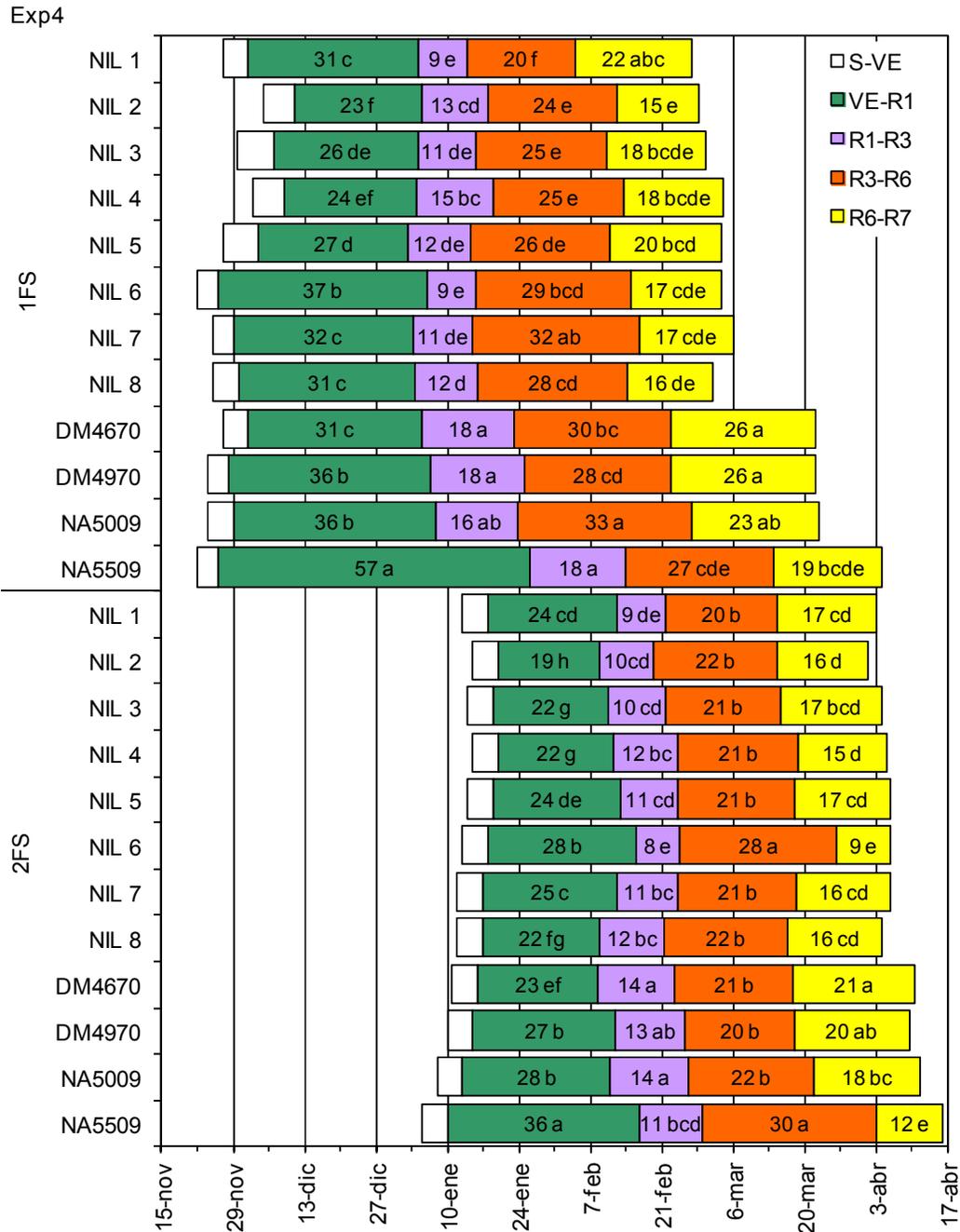


Figura 4.3. Duración de las subetapas del ciclo de cultivo (continuación). Ver referencia en página anterior.

El modelo de regresión múltiple construido a partir de los alelos y fondo genético permitió identificar efectos significativos de cada alelo o fondo genético sobre la ordenada al origen o la pendiente de la relación entre la duración de la etapa post-floración y el fotoperíodo explorado durante dicha etapa (Cuadro 4.3). Dicho modelo identificó a las NIL 1 y 7 como las de menor y mayor sensibilidad fotoperiódica, respectivamente (Figura 4.4B). A su vez, el modelo identificó una interacción entre el fotoperíodo y los alelos *E2*, *E3* y especialmente el alelo *E4*. También identificó una interacción entre el fotoperíodo y el fondo genético, siendo más sensibles los genotipos

con fondo Clark. Por ello, la NIL 7 que tiene alelos dominantes para $E2$, $E3$ y $E4$ y fondo Clark fue la más sensible entre todas las NIL evaluadas. En cambio, de acuerdo al modelo de regresión múltiple, el alelo $E1$ no tuvo interacción con el fotoperíodo y por lo tanto la presencia de un alelo dominante para dicho *locus* no contribuyó a la sensibilidad fotoperiódica post-floración.

Cuadro 4.3. Sensibilidad fotoperiódica post-floración. Ecuación, ordenada al origen (β_0), pendiente (β_1) y coeficiente de determinación (R^2) del modelo de regresión lineal simple ajustado para cada genotipo a la duración de la etapa post-floración (R1-R7) expresada en días termales en función del fotoperíodo medio explorado durante dicha etapa (FP) (ver Figura 4.4A). Ordenada al origen ($\hat{\beta}_0$) y pendiente ($\hat{\beta}_1$) estimada para cada NIL según su composición alélica y fondo génico a partir del modelo de regresión lineal múltiple (ver Figura 4.4B). Ecuación del modelo final de regresión lineal múltiple (selección *Stepwise*) ajustado a la duración de la etapa post-floración (R1-R7) expresada en días termales en función del fotoperíodo medio explorado durante dicha etapa. Coeficientes del modelo de regresión lineal múltiple y valor- p asociado.

Genotipo	Regresión lineal simple			Regresión lineal múltiple				
	$R1-R7 = \beta_0_{\text{genotipo}} + FP \cdot \beta_1_{\text{genotipo}}$			$R1-R7 = \beta_0 + \beta_{0,E1} \cdot E1 + \beta_{0,E4} \cdot E4 + FP \cdot (\beta_1 + \beta_{1,E2} \cdot E2 + \beta_{1,E3} \cdot E3 + \beta_{1,E4} \cdot E4 + \beta_{1,FG} \cdot FG)$				
	$\beta_0_{\text{genotipo}}$	$\beta_1_{\text{genotipo}}$	R^2	$\hat{\beta}_0_{\text{genotipo}}$	$\hat{\beta}_1_{\text{genotipo}}$	Coef.	Est.	valor- p
NIL 1	32,0	1,09	0,04	15,1	2,27	β_0	12,9	0,4222
NIL 2	-5,74	3,89	0,52	12,9	2,58	$\beta_{0,E1}$	2,18	0,1046
NIL 3	7,44	3,05	0,47	-27,3	5,45	$\beta_{0,E4}$	-40,2	0,0323
NIL 4	-19,7	5,19	0,54	-27,3	5,72	β_1	2,27	0,0456
NIL 5	-19,5	5,18	0,48	-27,3	5,76	$\beta_{1,E2}$	0,35	<0,0001
NIL 6	-52,5	7,35	0,82	-25,1	5,41	$\beta_{1,E3}$	0,31	<0,0001
NIL 7	-59,7	8,41	0,54	-27,3	6,07	$\beta_{1,E4}$	2,83	0,0318
NIL 8	-23,0	5,44	0,46	-27,3	5,76	$\beta_{1,FG}$	0,31	<0,0001
DM4670	-180	19,0	0,92					
DM4970	-212	16,5	0,94					
NA5009	-134	14,3	0,91					
NA5509	-171	17,2	0,92					

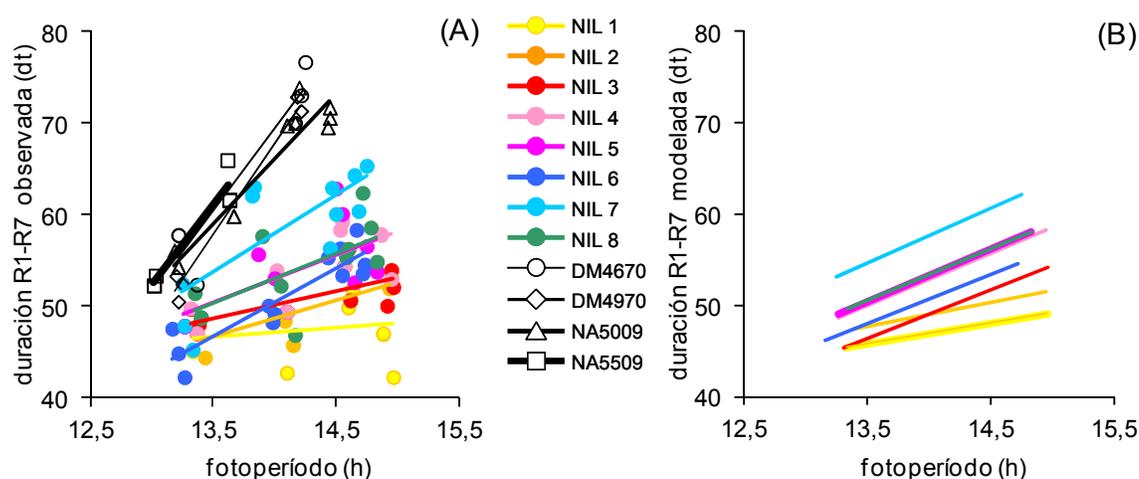


Figura 4.4. Sensibilidad fotoperiódica post-floración. Duración de la etapa post-floración (R1-R7) expresada en días termales en función del fotoperíodo medio explorado durante dicha etapa. En (A), duración observada para cada genotipo. En (B), duración estimada según el modelo de regresión lineal múltiple a partir de los alelos $E1$, $E2$, $E3$, $E4$ y el fondo génico.

La proporción reproductiva del ciclo total del cultivo (duración de la etapa post-floración en relación al ciclo total) fue de aproximadamente 0,70 para la mayoría de los genotipos, independientemente de la fecha de siembra (Figura 4.5). En contraste, las NIL 1 y 6 y el genotipo NA5509 en la 2da. FdeS tuvieron una proporción reproductiva del ciclo cercana a 0,60-0,65 y menor al resto de los tratamientos. Las NIL 1 y 6, son las únicas NIL con el alelo *E1* dominante (Cuadro 4.1). Aparentemente, el alelo *E1* dominante tendría un mayor efecto sobre la sensibilidad pre-floración que post-floración, afectando en mayor medida la duración de la etapa pre-floración que post-floración. En comparación con el resto de los tratamientos, el genotipo NA5509 en la 1ra. FdeS, tuvo la mayor duración total del ciclo y la menor proporción reproductiva del ciclo, con un valor de casi 0,50 del ciclo total.

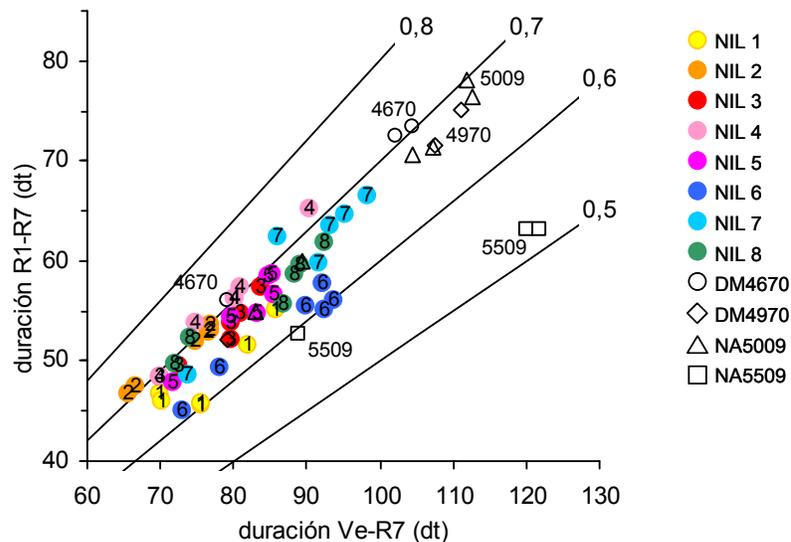


Figura 4.5. Proporción reproductiva del ciclo. Duración de la etapa post-floración (R1-R7) en función de la duración total del ciclo (VE-R7) expresadas en días termales. Las líneas representan isolíneas de duración relativa de la etapa post-floración respecto al ciclo total.

4.3.3. Crecimiento, rendimiento y sus componentes numéricos

Como resultado de los tratamientos incluidos en este capítulo, *i. e.* fechas de siembra y niveles de radiación y genotipos, se obtuvieron rendimientos en el rango de 322 a 972 g m⁻². Analizando en conjunto todos los datos, el rendimiento se correlacionó en mayor medida con el número de granos ($r=0,92$ $p<0,0001$) y la biomasa aérea en madurez ($r=0,89$ $p<0,0001$) y, en contraste, tuvo una baja correlación con el índice de cosecha ($r=0,23$ $p=0,08$) y nula con el peso de granos ($r=0,07$ $p=0,58$).

La biomasa aérea de cada genotipo aumentó de manera lineal con la longitud total del ciclo, cuando ambas variables se expresaron en términos absolutos (datos no mostrados) o como el desvío respecto a la media de ambiente —dado por la combinación de experimento, fecha de siembra y tratamiento de radiación— (Figura 4.6). La expresión de los resultados como el desvío respecto a la media permite evaluar el efecto genotípico (dado por la distinta sensibilidad fotoperiódica en las NIL) dentro de cada ambiente y a su vez, evaluar si la respuesta es similar entre ambientes. El desvío del índice de cosecha se mantuvo relativamente constante cuando el ciclo fue más corto que la media del ambiente y comenzó a disminuir a medida que el ciclo se extendió por encima de la media del ambiente. Las NIL 7 y 8 y los genotipos comerciales tuvieron ciclos más largos que la media ambiental. Como resultado de la caída en el índice de

cosecha, podría esperarse un estancamiento en la relación entre el rendimiento y el largo del ciclo. Esta respuesta se observó para el genotipo NA5509, de ciclo muy largo, pero no para el genotipo NA5009, ya que ésta tuvo valores de biomasa muy altos que compensaron la caída en el índice de cosecha.

El número de granos se correlacionó positivamente con el número de vainas ($r=0,96$ $p<0,0001$) y tendió a correlacionarse negativamente con el número de granos por vaina ($r=-0,24$ $p=0,06$). El número de vainas se correlacionó con el número de nudos por m^2 ($r=0,93$ $p<0,0001$) y no con el número de vainas por nudo ($r=0,06$ $p=0,65$). Como resultado de la alta correlación entre el número de nudos, vainas, granos y rendimiento, el rendimiento también estuvo correlacionado con el número de nudos ($r=0,74$ $p<0,0001$). Por otro lado, el rendimiento tuvo una correlación baja con la radiación fotosintéticamente activa interceptada durante todo el ciclo (RFA_{VE-R7} , $r=0,52$ $p<0,0001$) así como durante la post-floración (RFA_{R1-R7} , $r=0,40$ $p=0,0012$).

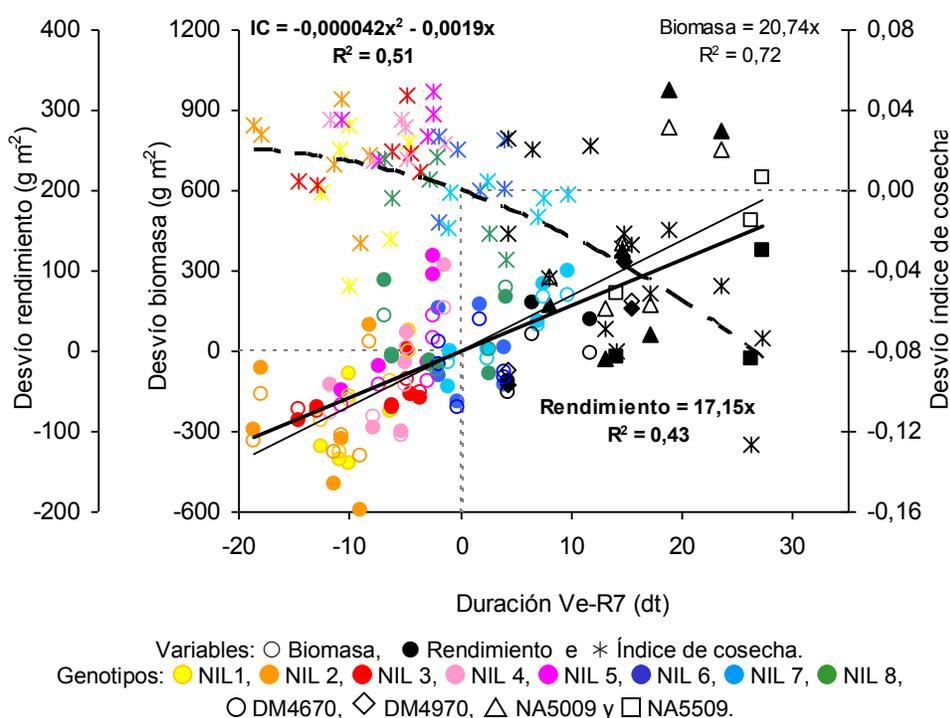


Figura 4.6. Biomasa, rendimiento e índice de cosecha. Desvío de cada genotipo respecto al promedio del ambiente ($Exp * FdeS * Radiación$).

Habiéndose descrito la asociación entre los subcomponentes del rendimiento, se describirá sólo el efecto de los tratamientos sobre la variable final rendimiento, detallándose sólo algunos efectos de los tratamientos sobre los subcomponentes del rendimiento (Cuadro 4.4). A su vez, a modo de simplificación, en el Cuadro 4.4 se presentan sólo los efectos principales de los tratamientos y no los resultados de su combinación factorial, aun cuando hubo interacciones significativas entre tratamientos. Aquellas interacciones significativas y consistentes en ambos experimentos se presentan en la Figura 4.7 y se comentarán en el texto.

La interacción entre los factores genotipo y fecha de siembra en la determinación del número de nudos, vainas, granos y rendimiento se debió principalmente a una distinta magnitud del efecto genotipo entre fechas de siembra (Figura 4.7). En la 1ra. FdeS, el ranking de rendimiento de los genotipos fue muy similar al presentado en el

Cuadro 4.4. Componentes del rendimiento. Efectos principales de los tratamientos sobre la radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada durante post-floración (RFA_{R1-R7}), biomasa aérea seca, índice de cosecha, rendimiento, número y peso individual de granos, número de vainas y granos por vaina, número de nudos y vainas por nudo.

RFA_{R1-R7} (MJ m ⁻²)	Biomasa (g m ⁻²)	IC	Rendimiento (g m ⁻²)	Granos (m ⁻²)	Peso individual (mg)	Vainas (m ⁻²)	Granos por vaina	Nudos (m ⁻²)	Vainas por nudo
--	---------------------------------	----	-------------------------------------	------------------------------	-------------------------	------------------------------	---------------------	-----------------------------	--------------------

Cuadro 4.4 para el efecto principal del factor genotipo (mínimo para la NIL 2: 435 g m⁻² y máximo para el genotipo NA5009: 741 g m⁻²). En la 2da. FdeS, el rango de rendimiento explorado por los genotipos fue menor (328 a 488 g m⁻²) y no hubo diferencias significativas entre genotipos. Aquellos genotipos que más rindieron en la 1ra. FdeS fueron los que más redujeron su rendimiento al atrasar la fecha de siembra, y viceversa. Resulta interesante cómo a través de cambios en el número de vainas por nudo, granos por vainas y peso individual de los granos, se compensaron las diferencias iniciales entre genotipos y FdeS en el número de nudos por m² produciendo finalmente rendimientos similares entre sí (Figura 4.7).

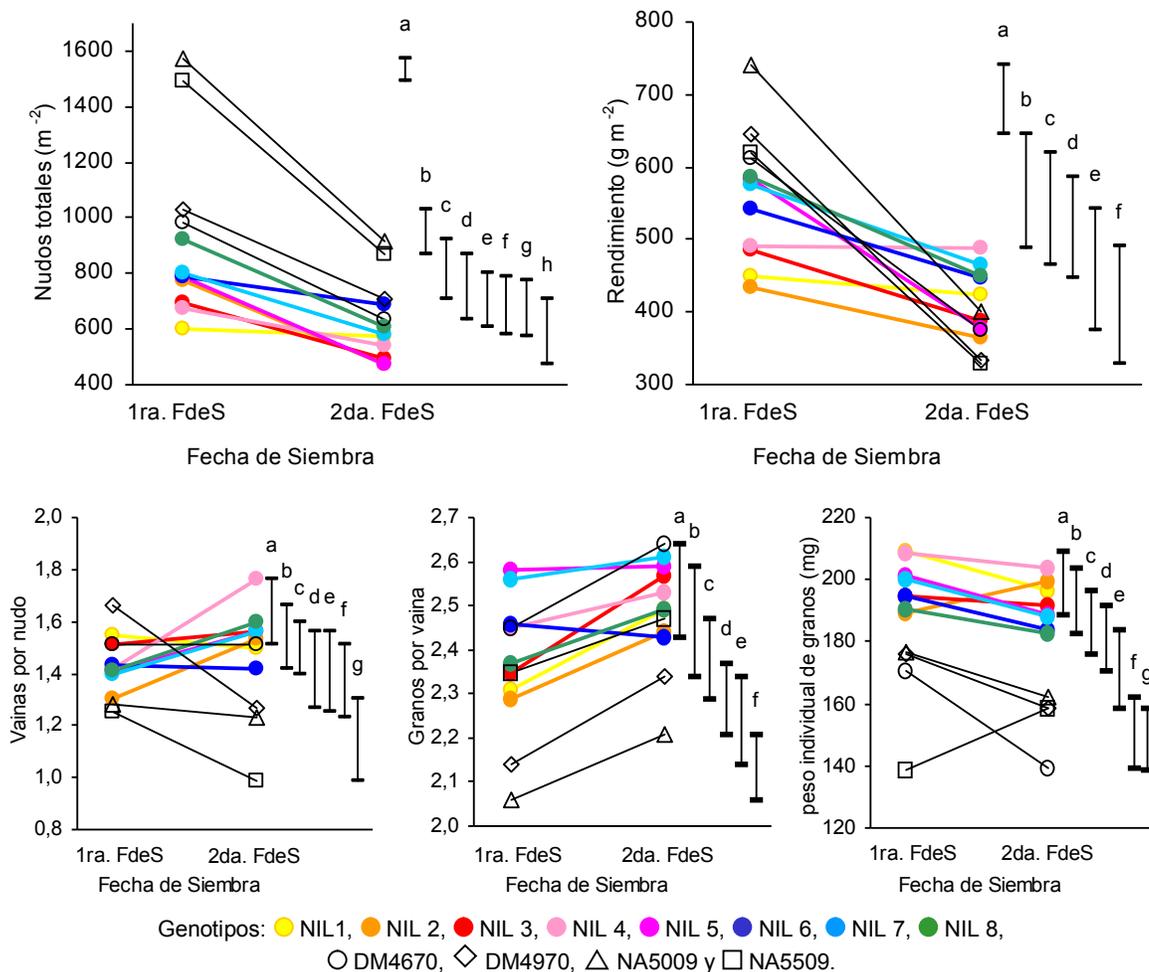


Figura 4.7. Representación esquemática de la interacción genotipo*fecha de siembra. Número de nudos, rendimiento, vainas por nudo, granos por vaina y peso individual de granos de cada genotipo en la 1ra. y 2da. fecha de siembra. Las barras indican diferencias no significativas entre tratamientos para cada variable de acuerdo al test de LSD Fisher.

En relación al efecto principal de los tratamientos sobre el rendimiento logrado, las fechas de siembra no se diferenciaron estadísticamente entre sí. Debido a la estructura anidada del diseño experimental, la potencia del modelo para evaluar el efecto de la fecha de siembra fue muy baja (cada experimento fue una repetición verdadera de este tratamiento). La primera fecha de siembra tendió a rendir un 40% más que la segunda y al igual que los subcomponentes del rendimiento (PAR_{R1-R7}, biomasa aérea, número de granos, vainas y nudos por m²) que estuvieron siempre un 35-47% por encima en la 1ra.

FdeS respecto a la segunda. Estos efectos pueden haber estado asociados a tanto a la menor iRFA, menor duración del ciclo o menor fotoperíodo de la 2da. FdeS. Si bien el sombreado redujo significativamente la RFA_{R1-R7} en un 37% y en un 12-19% el número de nudos, vainas y granos por m^2 , tampoco se detectaron diferencias significativas en el rendimiento de los tratamientos sombreados y no sombreados.

El efecto principal de la variable genotipo fue significativo para el rendimiento. Las NIL 1, 2 y 3 tuvieron los rendimientos más bajos y las NIL 7 y 8 y el genotipo NA5009 los mayores rendimientos. El genotipo NA5009 (la de mayor rendimiento) rindió un 43% más que la NIL 2 (siendo ésta la de menor rendimiento). El resto de los genotipos tuvo rendimientos intermedios e indistintos al grupo de mayor y menor rendimiento. Para los componentes de rendimiento: número de nudos, vainas y granos por m^2 se registraron diferencias de 112, 82 y 62%, respectivamente, entre el genotipo de mayor y el de menor valor observado. Sin embargo, estas grandes diferencias entre genotipos en los componentes de rendimiento fueron parcialmente compensadas por reducciones del 20-30% en el número de vainas por nudo y el peso individual de los granos, reduciendo su impacto final sobre el rendimiento. Comparando sólo los genotipos entre sí, *i. e.* las medias de los genotipos (Exp*FdeS*Radiación), el número nudos y el número de granos por m^2 estuvieron negativamente correlacionados con el número de vainas por nudo ($r=-0,86$) y el peso individual de granos ($r=-0,84$), respectivamente.

4.3.4. Producción de nudos y vainas por nudo

El número de nudos en el tallo principal se asoció linealmente con la duración de la etapa VE-R6 ($y = 7,89x + 30,76$; $R^2 = 0,79$), ya que alrededor de R5-R6 dejaron de aparecer nuevos nudos y hojas. En la Figura 4.8A se puede observar que también el desvío del número de nudos en el tallo principal de cada genotipo respecto a la media ambiental estuvo fuertemente asociado al desvío de la duración de la etapa VE-R6. Sin embargo, el desvío de la cantidad de nudos en las ramas no se asoció con el desvío de la duración de la etapa VE-R6 para ningún genotipo excepto los genotipos comerciales NA5009 y NA5509 (Figura 4.8B). Es decir, que para la mayoría de los genotipos, el número de nudos en las ramas fue determinado por el ambiente y fue independiente del efecto genotípico sobre la duración de la etapa. En cambio, los genotipos NA5009 y

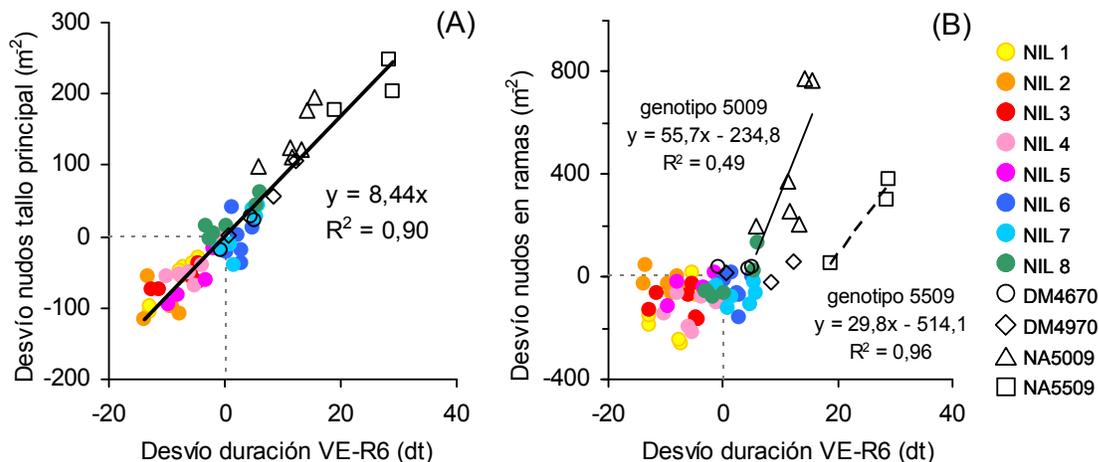


Figura 4.8. Producción de nudos. Desvío del número de nudos de cada genotipo respecto al promedio de todos los genotipos en un ambiente (Exp*FdeS*Radiación) en función del desvío del tiempo a R6 de ese genotipo respecto al promedio de todos los genotipos en ese ambiente. En el tallo principal (A) o las ramas (B). En (A), la recta se ajustó a todos los puntos y en (B) sólo al genotipo NA5009 (línea llena y ecuación superior) y al NA5509 (línea punteada y ecuación inferior).

NA5509 tuvieron más nudos en las ramas que la media ambiental y este aumento estuvo ligado al aumento de la etapa VE-R6.

En general, el perfil de distribución de vainas en el tallo principal y las ramas fue similar entre las NIL (Figura 4.9). Los primeros nudos (ubicados en la parte basal del tallo) originaron ramas provenientes de la yema central del nudo del tallo principal. Los siguientes nudos (cantidad variable de nudos según NIL) ubicados en la porción media del tallo tuvieron la mayor cantidad de vainas por nudo (entre 2 y 3), las que disminuyeron gradualmente hacia el ápice. Los genotipos comerciales y la NIL 6, que florecieron más tarde, tuvieron más nudos sin vainas en la base del tallo. En Figura 4.9 se muestran los perfiles obtenidos en el Exp4, en el cual las NIL casi no tuvieron vainas en los racimos laterales. Sin embargo, en el Exp3, las NIL tuvieron más vainas por planta, tanto en el racimo primario y los laterales del tallo principal, como en las ramas (ver Figura A.3 del Anexo). Los genotipos comerciales presentaron en general una mayor cantidad de vainas en los racimos laterales del tallo principal que las NIL y un mayor número de ramas (algunas de ellas provenientes de yemas laterales de nudos del tallo principal que ya tenían un racimo primario originado a partir de la yema central).

El sombreado redujo la cantidad de vainas por nudo en el tallo principal, siendo este efecto más pronunciado en los genotipos comerciales que en las NIL (Figura 4.9B). En la mayoría de los genotipos, se redujo la cantidad de nudos con muchas vainas en la porción media del tallo, lo que determinó que los perfiles de distribución de vainas a madurez tuviesen una mayor concentración de vainas en una menor cantidad de nudos bajo sombra que bajo plena radiación.

El atraso en la fecha de siembra en el Exp4 redujo principalmente la cantidad de nudos en el tallo principal de las NIL, sin modificar la cantidad de vainas por nudo ni la cantidad de vainas en las ramas (Figura 4.9C). El atraso en la fecha de siembra, también redujo la cantidad de nudos en el tallo principal de los genotipos comerciales en el Exp4 y todos los genotipos en el Exp3, y además redujo el número de vainas por nudo (racimo primario y racimos laterales) y el número de vainas en las ramas.

Si bien el número de vainas por nudo fue modificado por los diferentes tratamientos como se ilustró en los perfiles de distribución espacial de vainas (Figura 4.9), el rendimiento se relacionó linealmente con la cantidad de nudos por m^2 ($y = 0,34x + 235,69$; $R^2 = 0,55$). Dentro de todos los ambientes, el desvío del rendimiento de cada genotipo respecto a la media ambiental también se asoció linealmente con el desvío de la cantidad de nudos por m^2 (Figura 4.10A).

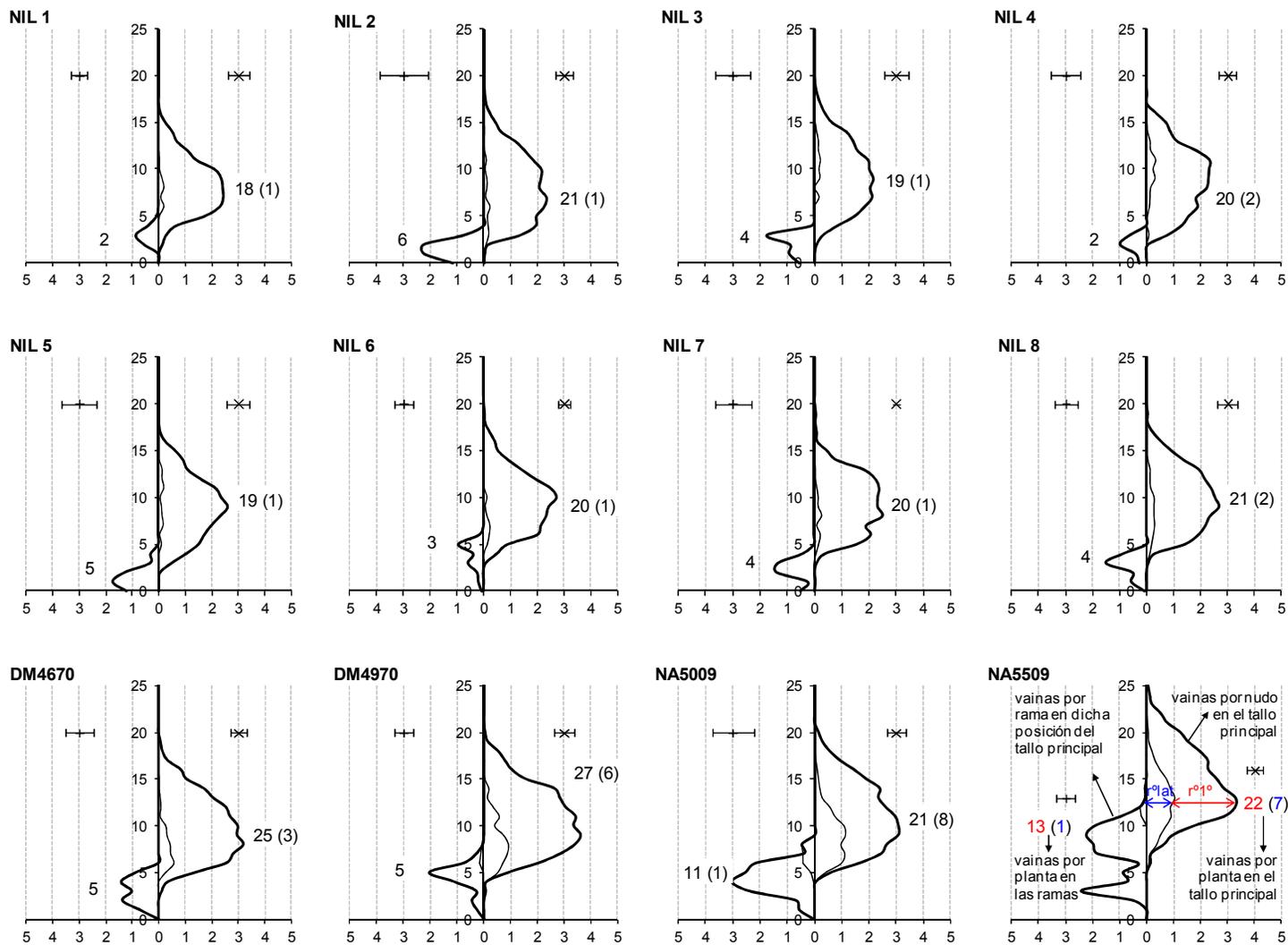


Figura 4.9A. Perfil de distribución espacial de vainas a madurez para cada genotipo bajo plena radiación en la primera fecha de siembra del Exp4. Número de vainas por nudo del tallo principal (a la derecha del eje) y número de vainas por rama inserta en cada nudo del tallo principal (a la izquierda del eje). La línea gruesa representa el número total de vainas y la línea fina el número de vainas en los racimos laterales, ver referencias en el gráfico del genotipo NA5509.

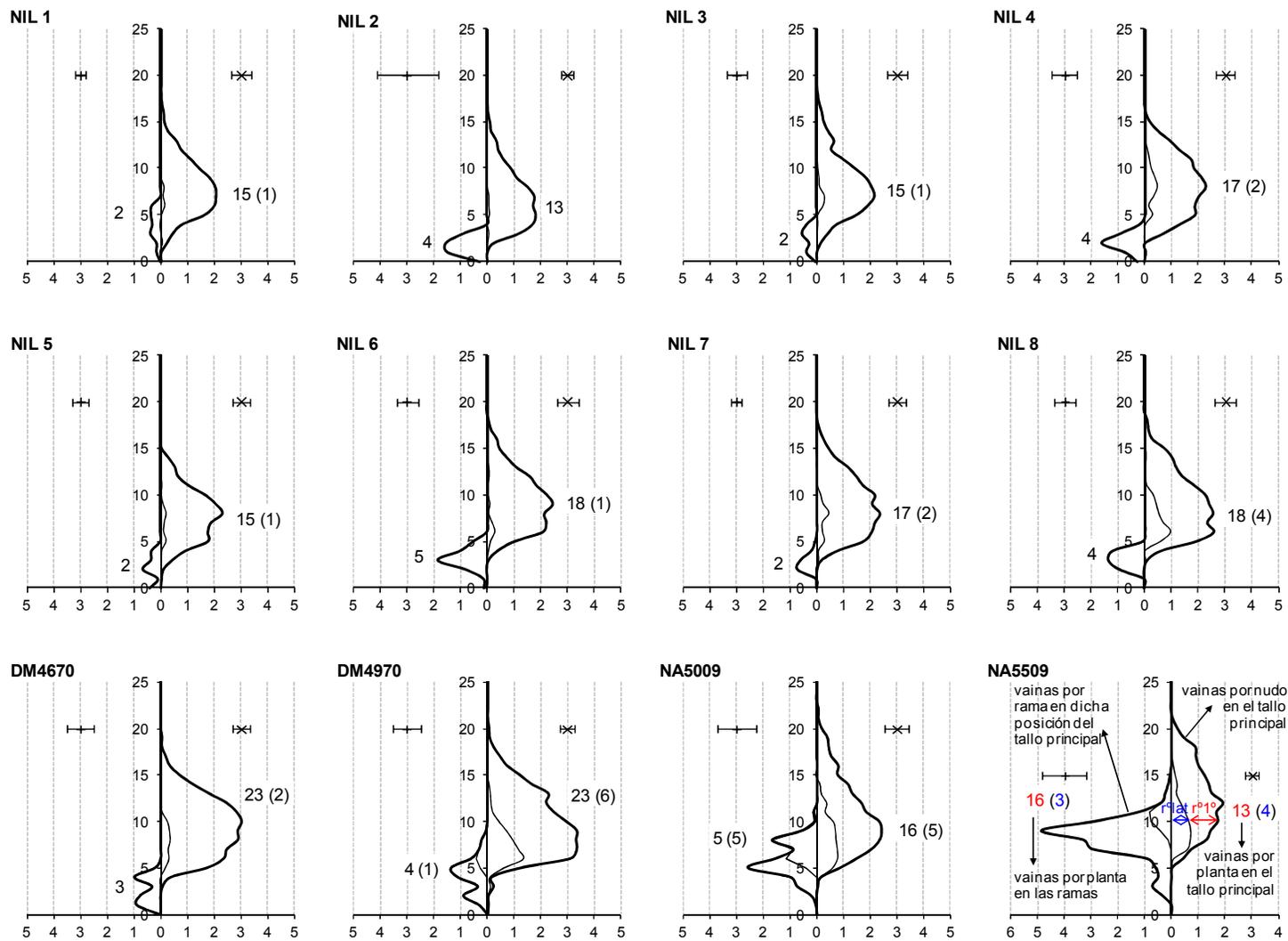


Figura 4.9B (cont.). Perfil de distribución espacial de vainas a madurez para cada genotipo bajo sombra en la primera fecha de siembra del Exp4. Ver referencias en panel A.

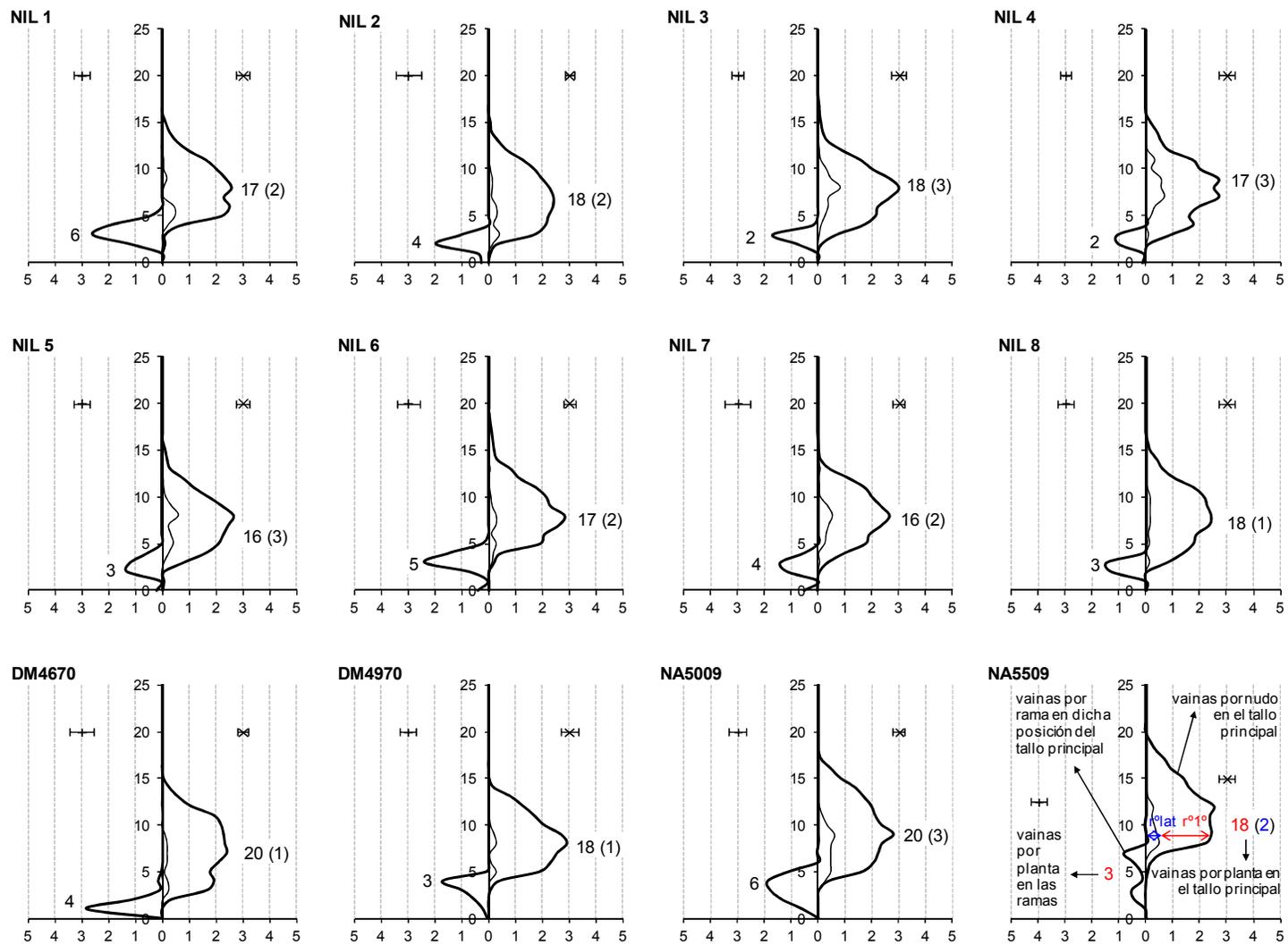


Figura 4.9C (cont.). Perfil de distribución espacial de vainas a madurez para cada genotipo bajo plena radiación en la segunda fecha de siembra del Exp4. Ver referencias en panel A.

Los genotipos comerciales NA5009 y NA5509 mostraron un menor rendimiento por nudo que el resto de los genotipos. Sin embargo, la pendiente de la relación ajustada a dichos genotipos fue similar a la pendiente de la relación ajustada para el resto de los genotipos (0,41 y 0,44 gramos de grano por nudo) y sólo se diferenciaron en su ordenada al origen. Al graficar el desvío del rendimiento en función del desvío del número de nudos reproductivos (aquellos nudos que contienen al menos una vaina) (Figura 4.10B) mejoró el ajuste de la relación para todos los genotipos juntos. Esto indica que parte de la diferencia entre la ordenada al origen de relación de los genotipos NA5009 y NA5509 y la relación del resto de los genotipos observada en la Figura 4.10A, se debió a la presencia de una mayor cantidad de nudos no reproductivos en los genotipos NA5009 y NA5509. Dentro de los nudos no reproductivos, están incluidos los nudos que sólo dieron origen a una rama y los nudos en donde no se fijó ninguna vaina. Más allá de la mejora del ajuste conseguido con los nudos reproductivos respecto a los nudos totales, algunos datos de los genotipos NA5009 y NA5509 y la NIL 2 presentaron residuales negativos para la relación entre el desvío del rendimiento y el desvío del número de nudos reproductivos ajustada a todos los genotipos. Por lo tanto, presentaron menor rendimiento por nudo que el promedio del ambiente, en línea con el menor número de vainas por nudo, granos por vaina y peso individual de granos presentado en el Cuadro 4.4.

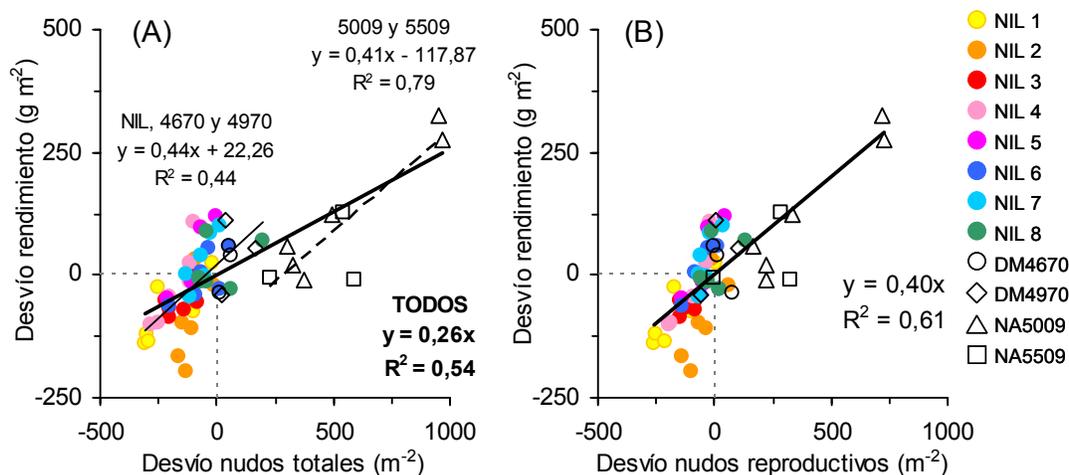


Figura 4.10. Rendimiento y número de nudos. Desvío del rendimiento de cada genotipo respecto al promedio de todos los genotipos en un ambiente (Exp*FdeS*Radiación) en función del desvío del número de nudos totales (A) o reproductivos (B) de ese genotipo respecto al promedio de todos los genotipos en ese ambiente. En (A), se ajustó una recta para todos los genotipos (línea gruesa), otra para todas las NIL y los genotipos DM4670 y DM4970 (línea fina continua) y otra para los genotipos NA5009 y NA5509 (línea fina punteada). En (B), la recta se ajustó a todos los puntos.

La relación entre los valores absolutos de rendimiento y la RFA_{R1-R7} ajustada para todos los datos fue muy baja ($y = 0,50x + 258,20$; $R^2 = 0,16$). Sin embargo, la relación entre el desvío del rendimiento de cada genotipo respecto al promedio del ambiente y el desvío de la RFA_{R1-R7} respecto al promedio del ambiente tuvo un mejor ajuste (Figura 4.11). Esto indica que dentro de cada ambiente, las diferencias en el rendimiento entre genotipos pueden atribuirse, en parte, a la RFA_{R1-R7} ; mientras que las diferencias en el rendimiento entre ambientes no estuvieron relacionadas con la RFA_{R1-R7} . Los mismos resultados se obtuvieron al realizar el análisis con la RFA_{VE-R7} en lugar de la RFA_{R1-R7} (datos no mostrados).

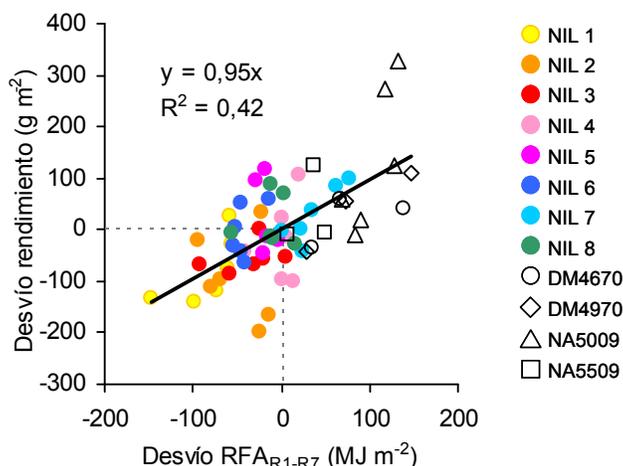


Figura 4.11. Rendimiento y radiación. Desvío del rendimiento de cada genotipo respecto al promedio de todos los genotipos en un ambiente ($\text{Exp} \cdot \text{FdeS} \cdot \text{Radiación}$) en función del desvío de la radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada entre R1 y R7 ($\text{RFA}_{\text{R1-R7}}$) por ese genotipo respecto al promedio de todos los genotipos en ese ambiente. La recta y ecuación corresponden al ajuste para todos los puntos.

Como se discutió en la Figura 2.8 del Capítulo 2, el número de nudos por m^2 también estuvo relacionado con la disponibilidad de recursos. Por lo tanto, parte de la relación entre el rendimiento y el número de nudos pudo deberse a un efecto directo del fotoperíodo (o la sensibilidad fotoperiódica) sobre la producción de nudos y otra parte pudo deberse a un efecto fotoperiódico indirecto mediado por la disponibilidad de $\text{RFA}_{\text{VE-R6}}$. En la Figura 4.12A se puede observar la relación lineal positiva entre el desvío del número de nudos por m^2 y la $\text{RFA}_{\text{VE-R6}}$ respecto a la media ambiental. También se encontró una relación lineal positiva entre los valores absolutos de dichas variables ($y = 1,85x - 111,26$; $R^2 = 0,47$) lo cual indica que los tratamientos de fecha de siembra y radiación también modificaron la cantidad de nudos totales por m^2 a través de cambios en la $\text{RFA}_{\text{VE-R6}}$.

En la Figura 4.12B se presenta el efecto estimado de cada tratamiento sobre la cantidad de nudos por m^2 en función del efecto estimado sobre la $\text{RFA}_{\text{VE-R6}}$. Se puede observar que ante variaciones en la $\text{RFA}_{\text{VE-R6}}$ por cambios en la radiación incidente (tratamientos de sombreado) la cantidad de nudos cambió a razón de $0,7$ nudos MJ^{-1} . En cambio, cuando la $\text{RFA}_{\text{VE-R6}}$ varió como resultado de cambios en la fecha de siembra, la cantidad de nudos cambió en mayor medida: $2,2$ nudos MJ^{-1} . Este resultado indica que variaciones en la fecha de siembra modificaron la cantidad de nudos por m^2 más allá de su efecto indirecto a través de cambios en la oferta de $\text{RFA}_{\text{VE-R6}}$. Cuando la $\text{RFA}_{\text{VE-R6}}$ varió como resultado de cambios genotípicos, la cantidad de nudos cambió a razón de $1,9$ nudos MJ^{-1} en los genotipos comerciales. Es decir, que en los genotipos comerciales la sensibilidad fotoperiódica modificó la cantidad de nudos producidos más allá de su efecto indirecto a través de cambios en la oferta de $\text{RFA}_{\text{VE-R6}}$. En el caso de las NIL, la cantidad de nudos cambió a razón de $1,1$ nudos MJ^{-1} . Al no diferenciarse del efecto del sombreado ($0,7$ nudos MJ^{-1}) puede considerarse que en las NIL la sensibilidad fotoperiódica modificó la cantidad de nudos sólo por efecto indirecto. Es posible que en los genotipos comerciales sí se observe un efecto directo a diferencia de las NIL, por su mayor sensibilidad fotoperiódica y/o como resultado del mejoramiento sobre dicho carácter.

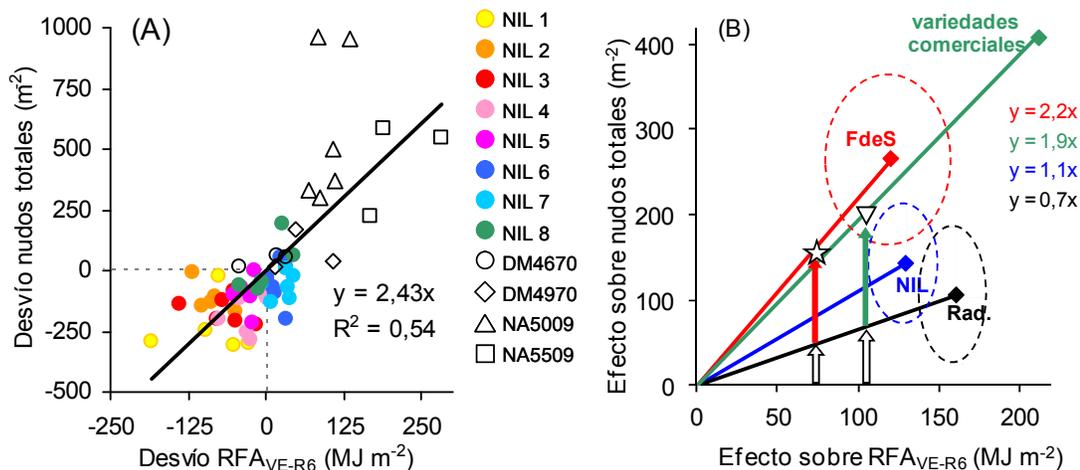


Figura 4.12. Efectos fotoperiódicos directos e indirectos sobre la producción de nudos. En (A), desvío del número de nudos totales de cada genotipo respecto al promedio de todos los genotipos en un ambiente ($Exp \cdot FdeS \cdot Radiación$) en función del desvío de la radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada entre VE y R6 (RFA_{VE-R6}) por ese genotipo respecto al promedio de todos los genotipos en ese ambiente. En (B), efecto de cada tratamiento sobre los nudos totales en función de su efecto sobre la RFA_{VE-R6} . El efecto fue estimado como la diferencia entre la 1ra. y 2da. FdeS (rojo), los tratamientos no sombreados y los sombreados (negro), la NIL más y menos sensible al fotoperíodo (azul) y el genotipo comercial más y menos sensible al fotoperíodo (verde). Valor promedio del efecto (rombo) y desvío estándar promedio para ambos experimentos (óvalo punteado). Las flechas ilustran para dos situaciones ejemplo (estrella y triángulo) la magnitud del efecto directo de la FdeS (flecha roja) y la sensibilidad fotoperiódica en los genotipos comerciales (flecha verde) sobre la producción de nudos y su efecto indirecto a través del aumento de la oferta de radiación (flecha blanca) estimado a partir del efecto del sombreado sobre la producción de nudos.

La eficiencia en el uso de la radiación definida en términos de rendimiento ($EUR_{R,RFA}$, estimada como el cociente entre el rendimiento y la RFA_{R1-R7}) estuvo negativa y linealmente asociada con la RFA_{R1-R7} nudo⁻¹ (Figura 4.13). Como se discutió en la sección 2.4 del Capítulo 2, esta relación inversa entre $EUR_{R,RFA}$ y RFA_{R1-R7} nudo⁻¹ puede explicarse a través de la relación curvilínea que existe entre la disponibilidad de asimilados y el establecimiento de vainas a nivel de nudo. Según esta relación, distribuir los asimilados o recursos y los destinos producidos en diferentes nudos, permitiría aumentar la eficiencia con que dichos recursos se utilizan para fijar vainas. En la Figura 4.13 se presenta también la relación entre $EUR_{R,RFA}$ y RFA_{R1-R7} nudo⁻¹ encontrada en los Exp1 y 2 de esta tesis para el genotipo NA5009 ante manipulaciones artificiales del fotoperíodo y la radiación incidente (Figura 2.9, Capítulo 2). Se puede observar, que los genotipos comerciales (especialmente las NA5009 y NA5509) se alejaron de la relación ajustada a las NIL y se acercaron a los datos y regresión ajustados en el Capítulo 2. El rango de eficiencia en el uso de la radiación explorado fue similar (desde 0,75 a 2 g MJ^{-1}) pero los genotipos comerciales alcanzaron una determinada $EUR_{R,RFA}$ con menores valores de RFA_{R1-R7} por nudo que las NIL. Por otro lado, la mayoría de los datos del Exp4 tuvieron una muy baja $EUR_{R,RFA}$ y no mostraron relación con la RFA_{R1-R7} por nudo, sugiriendo que en el Exp4 el rendimiento estuvo más limitado por otro recurso.

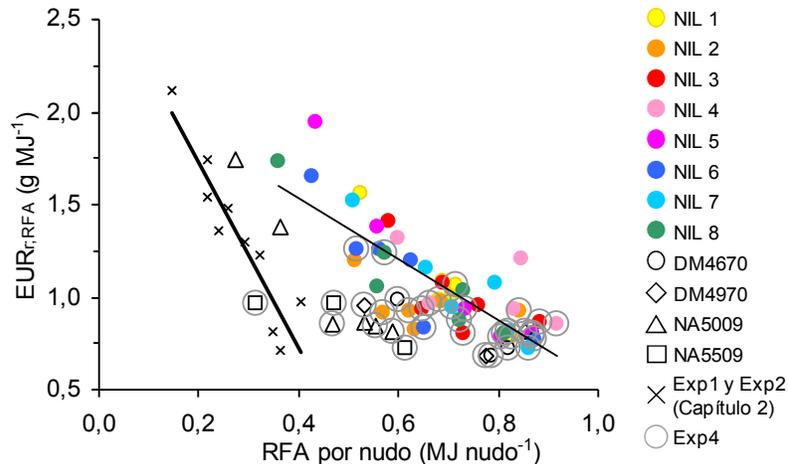


Figura 4.13. Eficiencia en el uso de la radiación para rendimiento y EUR_{R1-R7} en función del cociente entre la radiación fotosintéticamente activa interceptada y acumulada entre R1 y R7 (RFA_{R1-R7}) y el número total de nudos. Recta de regresión para las NIL (línea fina) y los datos de los Exp1 y Exp2 del capítulo 2 (línea gruesa). Los círculos grises engloban los datos del Exp4.

4.3.5. Floración, desarrollo y establecimiento de vainas a nivel de nudo

El efecto de la FdeS y los genotipos sobre la cantidad de flores y vainas y el cuaje en racimos primarios y laterales fue similar en los nudos basales, centrales y apicales observados; por lo tanto, en el Cuadro 4.5 se muestra el valor promedio de las tres posiciones del tallo. Dado que hubo interacciones significativas entre los tratamientos de FdeS y genotipo, en el Cuadro 4.5 se presentan los resultados de su combinación factorial.

El número de flores fue muy diferente entre racimos y entre genotipos. En el racimo primario se registraron valores promedio de 2,2 a 7,8 flores por racimo y en los racimos laterales el número y rango de flores por racimo fue de 1,4 a 3,6. Por su parte, los genotipos comerciales produjeron, en general, una mayor cantidad de flores en ambos racimos (especialmente la NA5509 en el racimo primario) respecto de las NIL. Las NIL 1 y 6 establecieron muchas flores en el racimo primario pero muy pocas en los racimos laterales. Todos los genotipos, y en especial los genotipos DM4670 y NA5509, tuvieron más flores en el racimo primario en la 1ra. FdeS respecto a la 2da. FdeS (aunque el cambio no fue significativo para las NIL 2, 3, 4 y 7). Considerando todos los genotipos en conjunto, el número de flores en el racimo primario tendió a ser un 53% mayor ($p=0,0917$) en la 1ra. FdeS respecto a la 2da. FdeS. En cambio, en los racimos laterales no todos los genotipos se comportaron igual ante el cambio en la FdeS. Los genotipos 4, 5 y DM4670 tuvieron significativamente más flores en los racimos laterales en la 2da. FdeS respecto a la 1ra. FdeS. En el resto de los genotipos, el retraso de la FdeS no produjo cambios significativos, aunque los genotipos 1, 2, 3, 6 y 7 también tendieron a presentar un mayor número de flores en los racimos laterales en la 2da. FdeS respecto a la 1ra. FdeS. Contrariamente, los genotipos 8, DM4970 y NA5509 tendieron a establecer menos flores en los racimos laterales en la 2da. FdeS respecto a la 1ra. FdeS.

Cuadro 4.5. Componentes del rendimiento a nivel de nudo. Efecto simple de la combinación factorial de los tratamientos de FdeS y genotipo sobre el número de flores y vainas por nudo y el cuaje en el racimo primario o los laterales.

	Flores (nudo ⁻¹)		Vainas (nudo ⁻¹)		Cuaje	
	Rac. 1°	Rac. Lat.	Rac. 1°	Rac. Lat.	Rac. 1°	Rac. Lat.
1er. FdeS						
NIL 1	4,7 d	1,1 fg	2,6 a	0,2 ef	0,57 de	0,14 cde
NIL 2	2,9 fg	1,5 efg	1,8 cde	0,3 def	0,62 bcde	0,21 abcde
NIL 3	2,8 ghij	1,4 efg	1,7 de	0,3 def	0,62 bcde	0,24 abcd
NIL 4	2,4 ijk	0,8 g	1,8 de	0,0 f	0,72 abc	0,05 e
NIL 5	2,8 ghij	1,1 fg	1,9 cde	0,1 ef	0,66 bcde	0,16 bcde
NIL 6	5,3 c	0,8 g	2,6 a	0,2 def	0,52 ef	0,21 abcde
NIL 7	3,1 fgh	1,4 efg	1,8 de	0,2 ef	0,58 cde	0,17 bcde
NIL 8	3,2 fg	2,4 abcdef	1,8 cde	0,5 cd	0,58 cde	0,22 abcde
DM4670	6,4 b	1,8 defg	1,6 de	0,3 def	0,23 h	0,21 abcde
DM4970	5,8 bc	3,2 abcd	2,4 ab	0,8 bc	0,42 fg	0,29 abc
NA5009	3,8 e	3,6 ab	1,5 e	1,2 a	0,39 g	0,34 a
NA5509	9,9 a	3,5 abc	2,2 abc	1,1 ab	0,19 h	0,34 ab
2da. FdeS						
NIL 1	3,6 ef	1,7 efg	2,3 abc	0,5 cd	0,66 bcde	0,25 abc
NIL 2	2,5 hijk	2,7 abcde	1,9 cde	0,5 cd	0,75 ab	0,19 abcde
NIL 3	2,3 jk	1,9 defg	1,5 e	0,2 ef	0,64 bcde	0,10 cde
NIL 4	2,0 k	2,3 bcdef	1,7 de	0,3 def	0,84 a	0,13 cde
NIL 5	2,0 k	3,3 abcd	1,7 de	1,1 ab	0,85 a	0,28 abc
NIL 6	3,2 efg	2,1 cdefg	2,2 abcd	0,3 def	0,71 bcd	0,13 cde
NIL 7	2,7 ghij	2,1 cdefg	1,7 de	0,4 de	0,66 bcde	0,19 abcde
NIL 8	2,4 ijk	1,5 efg	1,5 e	0,2 ef	0,64 bcde	0,06 de
DM4670	2,3 ijk	3,7 a	1,6 e	0,4 de	0,74 abc	0,08 de
DM4970	3,3 efg	2,3 bcdefg	2,2 abcd	0,2 def	0,66 bcde	0,03 e
NA5009	2,8 ghij	3,6 ab	2,0 bcd	0,9 b	0,71 bcd	0,23 abcd
NA5509	5,7 bc	2,4 abcdef	2,0 bcd	0,4 cde	0,31 gh	0,15 bcde
FdeS.	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Genotipo	***	***	***	***	***	***
FdeS*Gpo.	***	***	**	***	***	***

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre medias ($p < 0,05$) de acuerdo al test de LSD Fisher. No significativo (ns), $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**), $p < 0,001$ (***)

Si bien, en el racimo primario, el número de flores fue mayor en la 1ra. FdeS que en la 2da. FdeS, esas flores no se tradujeron en vainas en dicho racimo para ningún genotipo debido a fallas en el cuaje de las vainas provenientes de dichas flores. Esto ocurrió especialmente en los genotipos comerciales; por lo tanto, aunque tuvieron más flores en el racimo primario que la mayoría de las NIL, el número final de vainas en dicho racimo fue mayor sólo en la DM4970 y la NA5509, respecto del resto de los materiales. De hecho, el genotipo NA5009 tuvo menos vainas en el racimo primario en la 1ra. FdeS respecto de la 2da. FdeS. Las NIL 1 y 6 tuvieron un valor de cuaje

intermedio en el racimo primario, que combinado con un alto número de flores, resultó en el número más alto de vainas en los racimos primarios, respecto del resto de los genotipos. En los racimos laterales, no se observó una relación negativa entre el número de flores y el cuaje de vainas, como se observó en el racimo primario. Por lo tanto el número final de vainas en los racimos laterales sí estuvo relacionado con el número de flores producidas y el cuaje de vainas.

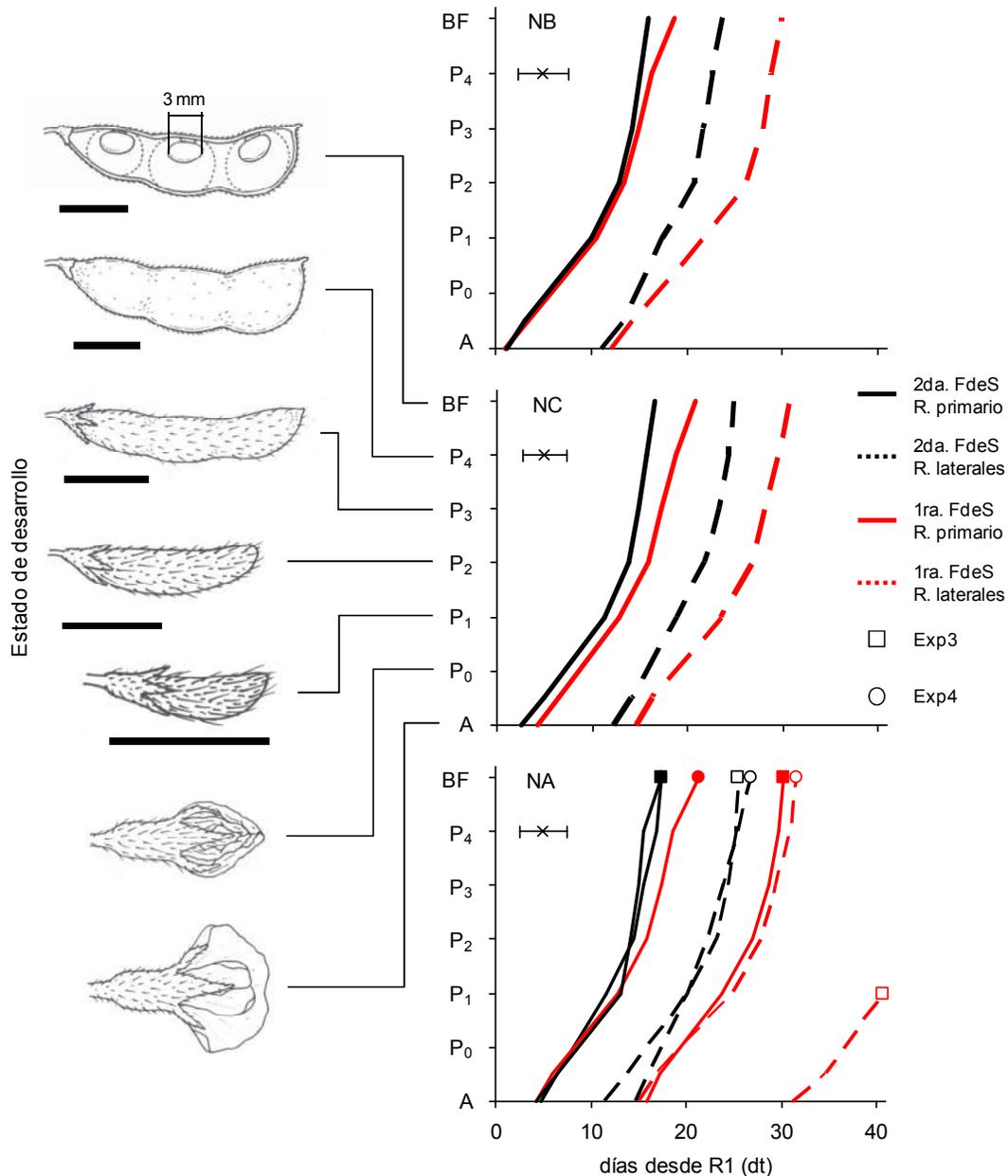


Figura 4.14A. Desarrollo/elongación de la primera vaina en función de los días termales desde floración (R1) para el racimo primario (línea continua) o laterales (línea punteada) en la 1ra. FdeS (rojo) o la 2da. FdeS (negro) en nudos ubicados en una posición basal (NB), central (NC) o apical del tallo principal (NA). Para los nudos apicales, se presentan separadamente los datos del Exp3 (cuadrados) y el Exp4 (círculos). Escala de desarrollo: flor abierta (A), vaina <1 cm (P₀), vaina de 1 a 2 cm (P₁) o vaina de 2 a 3 cm (P₂), vaina de 3 a 4 cm (P₃), vaina de 4 a 5 cm (P₄) y vaina con granos >3 mm (BF).

En la Figura 4.14A se muestra el estado de desarrollo de la primera vaina en función del tiempo, en el racimo primario y los laterales en tres posiciones del tallo en la 1ra. y 2da. FdeS (media de todos los genotipos). Los nudos basales (NB) florecieron en R1 (en el racimo primario) y exploraron fotoperíodos similares en la 1ra. y 2da. FdeS. En esta posición, la tasa de elongación de la primera vaina del racimo primario fue similar en ambas fechas de siembra (3,34 mm por dt), y se adelantó unos días el inicio del llenado en la 2da. FdeS. Los racimos laterales de los nudos basales florecieron al mismo tiempo desde R1 en ambas FdeS, pero la tasa de elongación de la primera vaina tendió a ser mayor en la 2da. FdeS respecto a la 1ra. FdeS (4,43 vs 3,37 mm por dt). En los nudos centrales (NC), la floración se adelantó levemente en la 2da. respecto de la 1ra. FdeS y la tasa de elongación tendió a ser mayor (0,9 mm por dt) tanto en el racimo primario como en los laterales. En los nudos apicales (NA), la dinámica de desarrollo de las vainas en la 1ra. FdeS fue distinta en el Exp3 y Exp4. En el Exp3, el racimo primario y los laterales en la 1ra. FdeS florecieron mucho más tarde que en la 2da. FdeS y las vainas de los racimos laterales no llegaron a completar su desarrollo. En el Exp4, la tasa de elongación tendió a ser mayor en la 2da. FdeS respecto a la 1ra. FdeS tanto en el racimo primario como los laterales, en forma similar a los nudos en las otras posiciones del tallo principal.

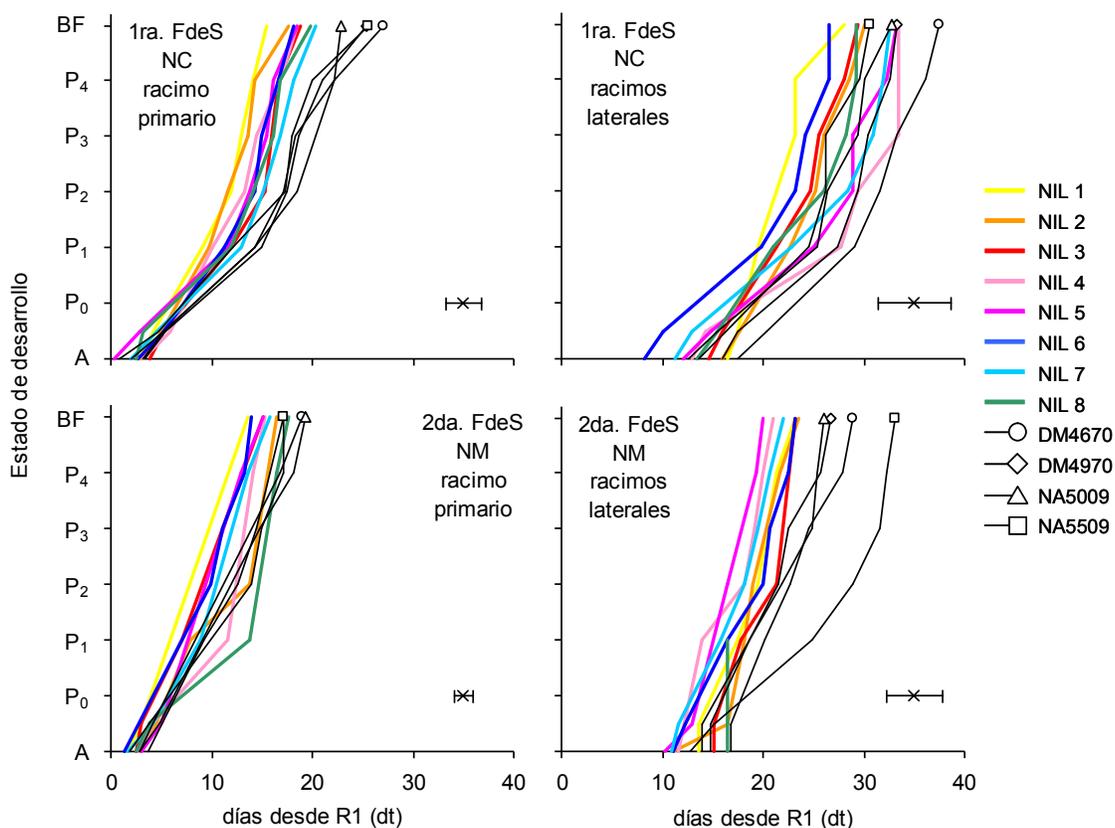


Figura 4.14B. Desarrollo/elongación de la primera vaina del racimo en función de los días termales desde floración (R1) para cada genotipo en el racimo primario (izquierda) o laterales (derecha) en la 1ra. FdeS (arriba) o la 2da. FdeS (abajo) en nudos ubicados en una posición media del tallo principal del Exp3. Escala de desarrollo: ver leyenda de la figura anterior.

En la Figura 4.14B se muestra el estado de desarrollo de la primera vaina de cada genotipo en función del tiempo, en el racimo primario y los laterales (en una posición media del tallo principal) en la 1ra. y 2da. FdeS. Se puede observar que la floración del

racimo primario de los nudos centrales ocurrió entre 2 y 4 dt después de R1 para todos los genotipos. En la 1er. FdeS, no hubo diferencias significativas entre genotipos en la tasa de elongación de la primera vaina del racimo primario (ca. 3,33 mm por dt). En la 2da. FdeS, la tasa de elongación de la primera vaina fue mayor para la NIL 6 (8,48 mm por dt), intermedia para las NIL 1, 5 y el genotipo NA5509 (4,99 mm por dt) en comparación con el resto de los genotipos (3,27 mm por dt). En los racimos laterales, la tasa de elongación no fue significativamente distinta entre genotipos en ninguna FdeS y los genotipos se diferenciaron entre sí por su momento de floración. Los racimos laterales de las NIL 6 y 7 florecieron relativamente temprano de acuerdo a su largo de ciclo y la NIL 1 relativamente tarde.

Cuadro 4.6. Duración de la fase lag de vainas y la floración.

	Fase lag de vainas (dt)		Floración (dt)
	Rac. 1°	Rac. Lat.	
1er. FdeS			
NIL 1	10,0 ijk	10,5 cde	23,9 bcde
NIL 2	9,7 jk	11,2 bcde	23,2 cde
NIL 3	11,1 fghijk	13,0 abcde	23,0 cde
NIL 4	11,2 efghij	14,8 abcde	20,9 efg
NIL 5	11,2 efghijk	12,1 abcde	18,7 fgh
NIL 6	11,2 efghij	11,8 abcde	18,7 fgh
NIL 7	12,8 cdef	16,1 ab	21,4 defg
NIL 8	11,7 efghi	11,0 cde	25,5 bcd
DM4670	16,2 a	15,9 abc	28,0 ab
DM4970	14,9 abc	15,2 abcd	26,8 abc
NA5009	15,2 ab	14,7 abcde	29,6 a
NA5509	15,7 ab	12,4 abcde	30,5 a
2da. FdeS			
NIL 1	10,7 ghijk	7,4 e	21,1 efg
NIL 2	9,4 k	12,3 abcde	19,8 efg
NIL 3	12,9 cde	8,4 de	19,9 efg
NIL 4	12,0 efgh	11,7 bcde	17,4 gh
NIL 5	10,6 ghijk	7,3 e	17,8 gh
NIL 6	9,5 jk	12,9 abcde	14,9 h
NIL 7	13,9 bcd	11,1 bcde	16,9 gh
NIL 8	14,3 abcd	8,9 cde	20,0 efg
DM4670	14,5 abcd	12,5 abcde	19,7 efg
DM4970	12,2 defgh	6,8 e	16,6 gh
NA5009	12,5 defg	9,3 cde	22,1 cdef
NA5509	10,1 hijk	18,1 a	21,1 defg
FdeS	ns	ns	ns
Genotipo	***	**	***
FdeS*Gpo.	***	**	ns

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre medias ($p < 0,05$) de acuerdo al test de LSD Fisher. No significativo (ns), $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**), $p < 0,001$ (***)).

La duración de la fase *lag* de vainas (Cuadro 4.6) de ambos racimos en la 1ra. FdeS se asoció con la duración de la etapa post-floración ($r=0,83$ $p<0,0001$). En cambio, en la 2da. FdeS la duración de la fase *lag* fue más errática y no estuvo asociada con la duración de la etapa post-floración ($r=0,26$ $p=0,2283$), especialmente en los racimos laterales. En general, la duración de la fase *lag* y la floración, fue ligeramente menor en la 2da. FdeS que en la 1ra. FdeS. En la 1ra. FdeS, la duración de la floración fue mayor en los genotipos comerciales. Sin embargo, observando los datos de las NIL 1, 2 y 3 de la 1ra. FdeS y todos los datos de la 2da. FdeS, la duración de la floración no parece estar vinculada al desarrollo de las vainas.

Se observó una relación muy estrecha entre la fecha de apertura de la última flor y el inicio del llenado de granos a nivel de nudo para todos los tratamientos (Figura 4.15A). Esta relación se debió principalmente al efecto de los ambientes (Exp y FdeS). Por lo tanto, cuando se expresó el valor de dicha variable como el desvío respecto a la media ambiental para cada genotipo, la relación fue mucho más débil, aunque significativa ($p<0,0001$, Figura 4.15B).

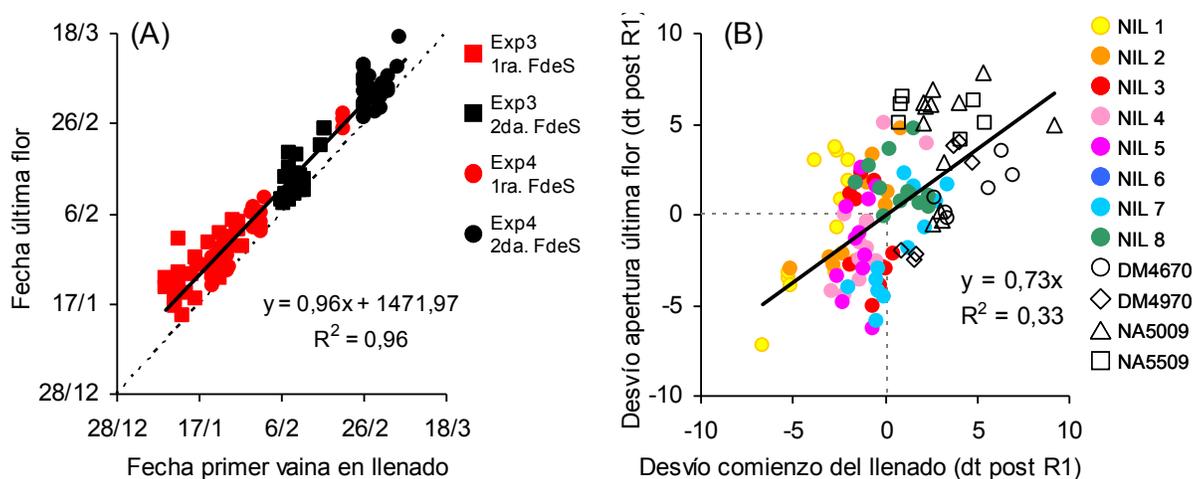


Figura 4.15. Coincidencia entre el fin de la floración y el comienzo del llenado de granos. En (A), fecha de apertura de la última flor en función de la fecha de comienzo del llenado efectivo (granos >3 mm) en nudos basales, centrales y apicales para cada ambiente (Exp*FdeS). En (B) desvío de la apertura de la última flor de un genotipo en función del desvío del comienzo del llenado, en ambos casos respecto a la media ambiental y en días termales desde R1. En (A), la ordenada al origen de la recta de regresión equivale a la fecha 6/4/1904 y la línea punteada representa la recta identidad ($y=x$). En (B), la recta y ecuación representan el ajuste para todos los datos.

Aunque *a priori* no parece haber relación entre la duración de la fase *lag*, la floración, el número de flores y las vainas, se repitió el análisis de sendero realizado en el Capítulo 3 (Figura 3.5 y Cuadro 3.3) para dichas variables. En términos generales, la correlación entre las variables involucradas fue baja (Cuadro 4.7). El número de flores fue la única variable que tuvo un efecto directo considerable sobre el número de vainas, y dicho efecto fue mayor en los racimos laterales. Dado que la correlación entre variables fue baja, los efectos indirectos del análisis de sendero también fueron bajos.

Cuadro 4.7. Coeficientes de sendero directos e indirectos de la duración de la fase *lag* de vainas y la floración (días termal) y el número de flores sobre el número de vainas en el racimo primario y laterales. Coeficientes de correlación y nivel de significancia de la correlación entre las tres variables involucradas en el establecimiento de vainas: *0,05; **0,01; ***0,001 ó no significativo (n. s.).

Variable	Efecto directo sobre el número de vainas	Efecto indirecto sobre el número de vainas			Correlación (r) con el número de vainas
		duración de la fase <i>lag</i>	duración de la floración	número de flores	
Racimo primario					
duración de la fase <i>lag</i>	-0,27	—	-0,04	0,06	-0,24***
duración de la floración	-0,10	-0,09	—	0,15	-0,04 (ns)
número de flores	0,49	-0,03	-0,03	—	0,42***
Racimos laterales					
duración de la fase <i>lag</i>	-0,04	—	0,06	0,10	0,12*
duración de la floración	0,19	-0,01	—	0,09	0,27***
número de flores	0,72	-0,01	0,02	—	0,74***

Correlación (r)	duración de la floración	número de flores	
		racimo primario	racimos laterales
duración de la fase <i>lag</i>	0,34***	0,13*	0,13**
duración de la floración	-	0,32***	0,13*

En la Figura 4.16 se presentan el número de flores, cuaje y vainas en el racimo primario y los laterales en función de la duración de la fase *lag* de la vaina dominante. Se presentan los datos de los Exp3 y Exp4 de este capítulo junto con los datos y funciones ajustadas a los Exp1 y Exp2 en el Capítulo 3. Los datos del Exp3 y Exp4 se acoplan a las funciones ajustadas a los de los Exp1 y Exp2, especialmente las NIL. Sin embargo, el rango explorado de fase *lag* con los tratamientos de FdeS y genotipo en el Exp3 y Exp4 fue mucho menor al explorado con tratamientos de extensión fotoperiódica de los Exp1 y Exp2. La participación del racimo primario (en cuanto a la producción de flores y número final de vainas) fue mucho mayor en los Exp3 y Exp4 que en los Exp1 y Exp2.

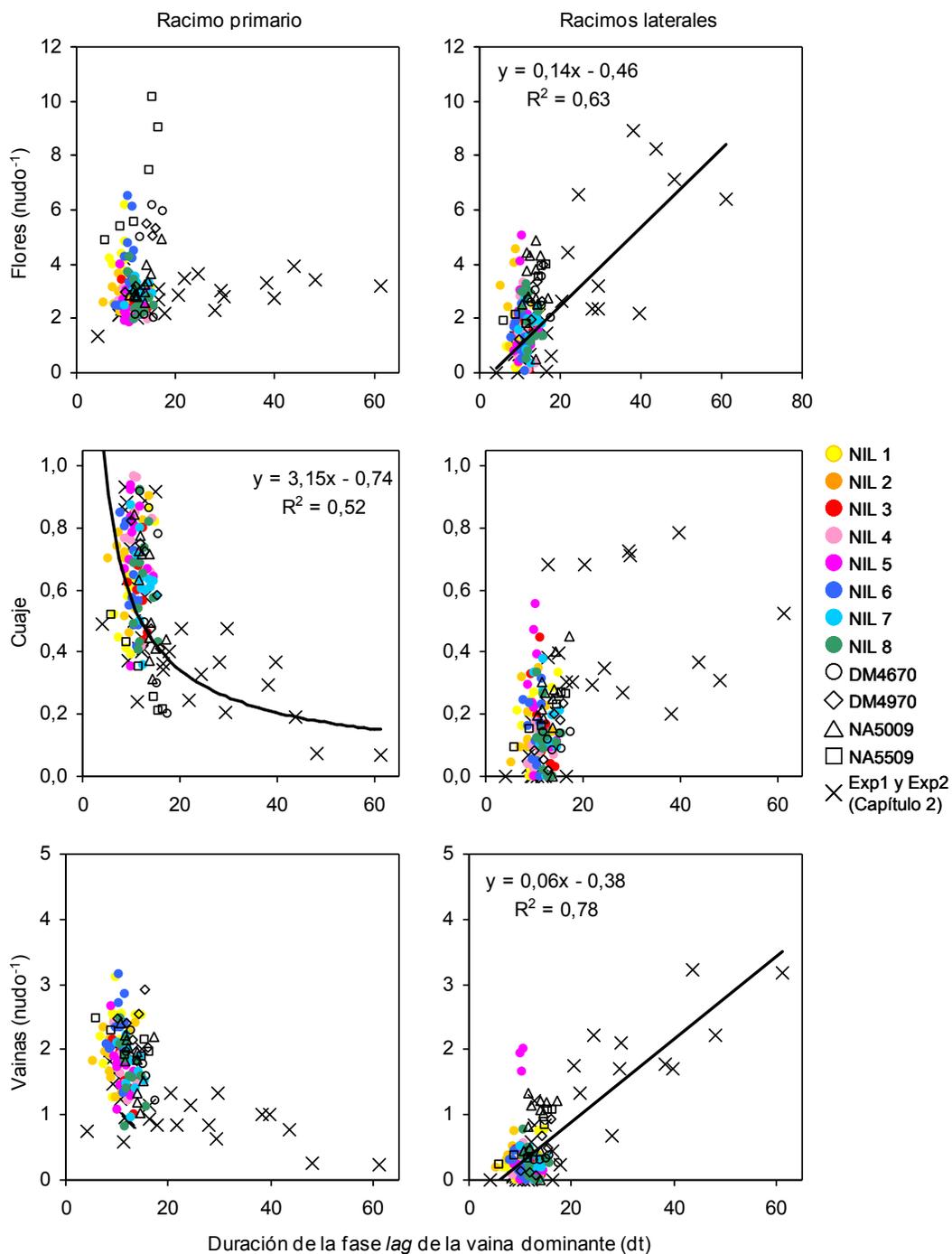


Figura 4.16. Relación entre las variables componentes del análisis de sendero: Número de flores por nudo, cuaje y vainas por nudo en función de la duración (expresada en días termales) de la fase lag de la primera vaina del racimo primario del nudo (considerada dominante) en el racimo primario (izquierda) o laterales (derecha). Se presentan los datos y funciones ajustadas en los Exp1 y Exp2 (cruces y línea gruesa).

4.4. Discusión

En este capítulo se describió la generación de rendimiento en 8 NIL y 4 genotipos comerciales de soja con distinta sensibilidad al fotoperíodo, sembradas en dos fechas para que explorasen, naturalmente, fotoperíodos similares durante pre-floración y diferentes durante post-floración. Se analizaron los mecanismos ecofisiológicos mediante los cuales se generó el rendimiento, comparándolos con aquellos observados en experimentos con un solo genotipo comercial y fotoperíodo extendido artificialmente durante post-floración. Dichos mecanismos son: el aumento de la radiación acumulada producto de la prolongación del ciclo (propuesto por Kantolic y Slafer, 2001) y la disminución de la interferencia entre órganos de distinta jerarquía que crecen en un mismo nudo mediante la distribución espacial (Capítulo 2) y temporal de los destinos (Capítulo 3).

Como era previsto, con las fechas de siembra se consiguió explorar distintos fotoperíodos durante la etapa post-floración (Cuadro 4.2). La diferencia del fotoperíodo medio explorado en R1-R7 entre la 1ra. y 2da. fecha de siembra (0,82 y 1,12 horas en el Exp3 y Exp4 respectivamente) fue menor que la diferencia entre tratamientos de extensión fotoperiódica obtenida en los Capítulos 2 y 3 (2,6; 1,5 y 2,4 horas en los tratamientos 3 h del Exp1, 1,5 h y 3 h del Exp2, respectivamente). En la primera fecha de siembra, el fotoperíodo y la duración de las etapas post-floración fue mayor que en la segunda fecha de siembra para todos los genotipos. Sin embargo, las fechas de siembra también modificaron la temperatura y radiación incidente exploradas por el cultivo. Mediante la expresión de los resultados en días termales (*i. e.* corregidos por el efecto universal de la temperatura sobre el desarrollo) y el tratamiento de sombreado en la primera fecha de siembra, se pudo separar el efecto de la temperatura y la radiación para comparar el efecto fotoperiódico entre fechas de siembra.

Por otro lado, la siembra escalonada de los genotipos (que sincronizó la floración de todos los genotipos excepto el genotipo NA5509) (Figura 4.3), permitió que los genotipos explorasen un fotoperíodo post-floración similar entre sí. En contraste y tal como plantearon otros autores (Kumudini *et al.*, 2007; Pallikonda, 2006), cuando las NIL se siembran simultáneamente, la presencia de alelos *E* dominantes retrasa la floración y consecuentemente el fotoperíodo explorado en post-floración por dichas NIL es menor que el de las NIL con alelos recesivos. Por lo tanto, cuando las NIL se siembran simultáneamente la respuesta post-floración de las NIL con alelos dominantes se subestima respecto a las NIL que portan alelos recesivos (Cober y Morrison, 2010; Curtis *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2001). La utilización de cámaras de cultivo o invernáculos con varios regímenes de fotoperíodo permite hacer una mejor caracterización de la respuesta fotoperiódica de las NIL (Asumadu *et al.*, 1998; Cober *et al.*, 2001; Ellis *et al.*, 2000; Summerfield *et al.*, 1998), pero tiene como desventaja que suelen hacerse en macetas y no permiten hacer una buena caracterización su comportamiento agronómico.

De acuerdo a lo esperado, la duración de la etapa post-floración fue variable entre genotipos (Figura 4.3). Si bien existió una fuerte relación entre la duración pre y post-floración, uno de los alelos (*E1*) tuvo un efecto diferencial en ambas etapas (Bernard, 1971; Buzzell, 1971; McBlain *et al.*, 1987; Messina *et al.*, 2006), al menos en presencia de alelos recesivos *e2*, *e3* y *e5* (como las NIL 1 y 6 utilizadas en esta tesis). La repercusión de dicho alelo sobre los mecanismos de respuesta fotoperiódica y la existencia de variabilidad genotípica para cada mecanismo será discutida en esta sección. A su vez, se observó una interacción entre los alelos y la fecha de siembra (fotoperíodo) (Figura 4.4A y Cuadro 4.3). Por lo tanto, las diferencias entre genotipos

fueron mucho menores, o incluso inexistentes, bajo condiciones fotoperiódicas más inductivas (*i. e.* segunda fecha de siembra, fotoperíodo más corto) (Cober *et al.*, 1996b; Cober *et al.*, 2001; Summerfield *et al.*, 1998; Upadhyay *et al.*, 1994).

La respuesta de cada genotipo fue similar en las subetapas R1-R3 y R3-R6, pero muy variable y errática en la etapa R6-R7 (Figura 4.3), al igual que observó Mc Blain *et al.* (1987). Posiblemente, la respuesta de la etapa R6-R7 se debió a que la duración del período de llenado y, consecuentemente, el tiempo a madurez dependen de la disponibilidad de reservas y de las condiciones ambientales durante dicha etapa (Egli, 2004); de hecho la etapa R6-R7 fue la única en la cual se observó un efecto del sombreado sobre la ontogenia, prolongando la etapa. Por otro lado, las temperaturas frescas del otoño podrían disminuir la sensibilidad fotoperiódica como sucede en la etapa pre-floración debido a la interacción entre el fotoperíodo y la temperatura (Cober *et al.*, 2001; Hadley *et al.*, 1984).

La duración de la etapa post-floración de un genotipo depende del fotoperíodo explorado, su fotoperíodo umbral, su sensibilidad fotoperiódica y la duración de su “fase reproductiva básica” (la mínima duración de la etapa cuando el fotoperíodo es menor al umbral, equivalente a la “fase vegetativa básica” de la etapa VE-R1). En el rango de fotoperíodo explorado (13 a 15 h), no se identificó ningún fotoperíodo umbral (Figura 4.4A), al igual que el trabajo de Summerfield *et al.* (1998) en el cual tampoco se identificó un umbral aun explorando un rango más amplio de fotoperíodo y llegando a valores de 12 h. Para la etapa pre-floración se han identificado umbrales entre 13,5 y 14,5 h según el genotipo (Cober *et al.*, 2001; Grimm *et al.*, 1993; Jones *et al.*, 1989; Summerfield *et al.*, 1998). En el rango de fotoperíodo explorado en los Exp3 y Exp4, la diferente duración de la etapa post-floración entre genotipos se debió a su sensibilidad al fotoperíodo —coeficiente de regresión entre la duración y el fotoperíodo— y también a una distinta ordenada al origen (que puede deberse tanto a un distinto umbral como fase reproductiva básica) (Cuadro 4.3).

La calidad del modelo de regresión múltiple construido a partir de la composición alélica y fondo génico de las NIL fue modesta (Figura 4.4B y Cuadro 4.3), ya que no se dispuso de una combinación de NIL que permitiese discriminar en forma precisa el rol de cada alelo, la epistasis entre alelos (Messina, 2003; Summerfield *et al.*, 1998) y la interacción entre los alelos y el fondo génico (Messina, 2003). El modelo construido no pretende estimar la duración de la etapa post-floración de estas u otras NIL en otras situaciones; ya que no fue construido ni validado para tal fin. Sin embargo, el modelo permitió estimar la contribución de cada alelo o fondo génico a la respuesta fotoperiódica de las NIL en los experimentos de este capítulo. Existen en la bibliografía otros modelos genéticos (*E1-E5*, *E7*) más completos y validados (Messina, 2003; Stewart *et al.*, 2003), pero éstos sólo estiman la sensibilidad fotoperiódica durante la etapa pre-floración.

De acuerdo al modelo de regresión múltiple, el alelo *E1* no tuvo interacción con el fotoperíodo y por lo tanto la presencia de un alelo dominante para dicho *locus* no contribuyó a la sensibilidad fotoperiódica post-floración (Cuadro 4.3). La NIL 1 fue prácticamente insensible al fotoperíodo durante post-floración, ya que ninguno de sus alelos ni su fondo genético (*E1e2e3e4e5E7E8* Harosoy) contribuyen a la sensibilidad fotoperiódica post-floración. Si bien la NIL 1 no posee alelos recesivos funcionales para *PHYA3* (*e3*) y *PHYA2* (*e4*), fue capaz de percibir el fotoperíodo ya que fue sensible al fotoperíodo en pre-floración —en este trabajo— y también durante post-floración en otros trabajos (Pallikonda, 2006). Los fitocromos encargados de la percepción del fotoperíodo en la NIL 1 pueden ser otros homólogos de *PHYA* que ya han sido

identificados en soja (Liu *et al.*, 2008; Watanabe *et al.*, 2009), *CRY1a (E8)* (Cheng *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2008) u otros fitocromos. Aparentemente, el alelo *E1* no estaría involucrado en la respuesta fotoperiódica en post-floración o requiere de la presencia de otros alelos para cumplir su función (en la colección de NIL utilizada en esta tesis, el alelo *E1* estuvo siempre acompañado por los alelos recesivos *e2*, *e3* y *e5*). Dado que el *locus E1* tuvo mayor impacto en pre que en post-floración, el efecto de un alelo *E1* vs. *e1* sobre la duración relativa de la etapa reproductiva de ciclo fue similar al del fotoperíodo natural vs. extendido en el Capítulo 2. Las NIL 1 y 6 y el genotipo comercial NA5509 tuvieron una duración relativa de la etapa reproductiva un 5 a 15% menor que el resto de los genotipos (Figura 4.5). En el caso de las NIL 1 y 6 fue debido a la presencia de un alelo *E1* dominante (Cuadro 4.1). En el caso del genotipo NA5509, la menor duración relativa de la etapa reproductiva fue debido a la exploración de fotoperíodos más cortos (al tener una etapa pre-floración muy extensa, la etapa reproductiva ocurrió más tarde que en el resto de los genotipos), ya que su sensibilidad fotoperiódica post-floración fue alta y similar al resto de los genotipos comerciales.

Respecto a los otros alelos, el modelo identificó una interacción entre el fotoperíodo y los alelos *E2*, *E3* y *E4* confirmando el rol de dichos alelos en la respuesta al fotoperíodo en post-floración (Cuadro 4.3). Por lo tanto la sensibilidad fotoperiódica post-floración aumentó en presencia de un alelo dominante en dichos *loci*. El modelo atribuyó un efecto mayor al alelo *E4* que al *E2* y *E3*. Este resultado debe ser interpretado cuidadosamente, ya que en la colección de NIL disponible, el alelo *E2* sólo estuvo presente en NIL con *E4*. Por lo tanto parte del efecto atribuido al alelo *E4* puede estar siendo confundido con el efecto de alelo *E2*. De hecho, al comparar la respuesta de las NIL 4 y 7 —que sólo difieren en el alelo *E2*— se observa que dicho alelo podría también tener un efecto importante. Messina (2003) encontró que el alelo *E5* —que tendría una función redundante al alelo *E2*— tuvo un efecto importante en el control de la duración de la etapa post-floración. Lamentablemente, la colección de NIL usada en el marco de esta tesis no presentaba variabilidad para dicho alelo (Cuadro 4.1).

Se identificó un efecto del fotoperíodo sobre la duración de la etapa post-floración, independiente de los alelos *E* incluidos en el modelo (*E1-E4*) (Cuadro 4.3). Estos resultados concuerdan con la identificación de varios QTL asociados a la respuesta fotoperiódica post-floración cuya ubicación no coincide con los *loci E* (Cheng *et al.*, 2011; Watanabe *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2004) y genes homólogos con funciones distintas o redundantes a los genes *E* conocidos actualmente (Kong *et al.*, 2010; Watanabe *et al.*, 2012). A su vez la interacción identificada entre el fondo génico y el fotoperíodo indica que probablemente exista variabilidad genotípica para otros genes asociados a la respuesta fotoperiódica post-floración. Dicha variabilidad resulta útil para proveer alelos que contribuyan a la conformación de un ideotipo de respuesta fotoperiódica.

En línea con el enfoque clásico de generación de rendimiento en los cultivos, el rendimiento se correlacionó con el número de granos y la biomasa aérea en madurez, más que con el peso de los granos y/o el índice de cosecha (Sección 4.3.3 y Figura 4.6). Si bien, tanto en esta tesis como en otras evidencias presentes en la literatura se han encontrado diferencias en el peso individual de granos entre distintas NIL (Cober y Morrison, 2010), es difícil atribuir un efecto “puro” de cada alelo sobre el peso de los granos, ya que suele existir una relación inversa entre peso y número de granos y además, el llenado de granos de distintas NIL no siempre ocurre bajo las mismas condiciones ambientales debido a las diferencias en su ciclo. En general, los genotipos con ciclo más largo tuvieron un menor índice de cosecha (Curtis *et al.*, 2000; Summerfield *et al.*, 1998; Wallace, 1985); debido a una menor tasa de partición durante

la etapa R6-R7 (datos no mostrados), que pudo deberse al agotamiento de las reservas o la disminución de la radiación incidente.

El enfoque propuesto por Kantolic y Slafer (2001) propone que el efecto de la respuesta fotoperiódica post-floración sobre la producción de granos puede ser explicado por cambios en la oferta de radiación producto de la modificación del período crítico del cultivo. Utilizando estas y otras NIL para los alelos *E*, Asumadu *et al.* (1998) encontraron una relación positiva entre el rendimiento por planta y la duración de la etapa post-floración. Los resultados de esta tesis mostraron una asociación pobre entre los valores absolutos de rendimiento y radiación acumulada en post-floración (incluyendo a todos los experimentos, fechas de siembra y tratamientos de radiación) (Sección 4.3.3). Sin embargo, dentro de cada ambiente la relación entre el rendimiento de un genotipo y la radiación acumulada en post-floración fue positiva y significativa (Figura 4.11). Esto indica que el mecanismo propuesto por Kantolic y Slafer (2001) también permite explicar una parte de la respuesta fotoperiódica post-floración de las NIL y genotipos comerciales utilizadas en esta tesis.

En línea con el mecanismo de respuesta fotoperiódica de distribución espacial de los destinos propuesto en el Capítulo 2, el rendimiento estuvo asociado con la producción de nudos por m² para todas las NIL, FdeS y tratamientos de sombreado (Figura 4.10) como también había sido observado en trabajos previos (Pallikonda, 2006; Wilcox *et al.*, 1995). Esta relación se mantuvo independientemente de que los nudos fueran producidos antes o después de R1 (en NIL con una menor o mayor duración relativa de la etapa post-floración, respectivamente). Por lo tanto, las NIL 1 y 6 tuvieron un rendimiento relativamente alto aun cuando su etapa reproductiva y la captura de recursos durante dicha etapa fueron menores a otras NIL con igual largo de ciclo. Este resultado no era esperado, ya que se esperaba que el número de granos estuviera asociado a la duración del período crítico y la captura de recursos durante dicho período (Kantolic y Slafer, 2001).

Entre las NIL, se encontró una relación estrecha entre el tiempo a R6 y la producción de nudos en los tallos principales, pero no en las ramas (Figura 4.8). Era de esperarse que ante la prolongación de dicha etapa, las ramas también continuasen produciendo más nudos por más tiempo o que la mayor oferta de radiación se tradujera en más nudos en las ramas, pero no se observó dicha respuesta. La producción de nudos en las ramas pudo haber sido disminuida por la alta densidad de plantas logradas utilizada en los experimentos de esta tesis (40 plantas por m²), escogida para garantizar que los genotipos precoces llegasen al índice de área foliar crítico (intercepción del 95% de la radiación incidente) en floración.

En este capítulo, se estimó el efecto directo del fotoperíodo (*i. e.* independiente del aumento de la oferta de radiación por la prolongación del ciclo) sobre la producción de nudos comparando el efecto de los tratamientos de radiación (sólo efecto indirecto) con el de las FdeS, NIL y genotipos comerciales (efecto directo + indirecto) (Figura 4.12). Se asumió que la única diferencia entre FdeS fue el fotoperíodo y que la única diferencia entre genotipos comerciales fue la sensibilidad fotoperiódica. Dicha asunción ignora que las distintas FdeS, además de explorar distinto fotoperíodo y radiación (que son las variables consideradas en el análisis), también pueden tener distinta oferta de agua y nutrientes o incidencia de adversidades. A través del riego, la inoculación y el control preventivo de adversidades se intentó proveer a cada FdeS de los recursos necesarios para expresaran su potencial de rendimiento y se diferenciases principalmente por el fotoperíodo y la radiación explorada. Por otro lado, cualquier grupo de genotipos puede diferenciarse entre sí en cientos de características además de

su sensibilidad fotoperiódicas. Por ello, se incluyeron en este análisis NIL que, dentro de cada fondo génico, se diferencian entre sí casi exclusivamente por su sensibilidad al fotoperíodo. Al igual que en el Capítulo 2, se observó un efecto directo del fotoperíodo sobre la producción de nudos. A su vez, se observó que la magnitud de dicho efecto fue mayor en los genotipos comerciales con mayor sensibilidad fotoperiódica, pero no en las NIL. La falta de diferencias significativas entre el efecto de la sensibilidad fotoperiódica en las NIL y el del sombreado —que no permitió estimar el efecto fotoperiódico directo en las NIL— probablemente se debió al acotado rango de fotoperíodo que exploraron las NIL (generado con las fechas de siembra). La comparación de las NIL bajo tratamientos de extensión fotoperiódica de mayor magnitud, seguramente provoque efectos de mayor magnitud y significancia. Ya que se observó una respuesta lineal entre los nudos por m² y el rendimiento, encontrar un efecto fotoperiódico directo sobre la producción de nudos resultaría muy interesante permitiría aumentar el rendimiento en forma independiente de la radiación acumulada, haciendo un uso más eficiente de los recursos.

Dado que el rendimiento estuvo relacionado con la cantidad de nudos por m² y hubo tratamientos (FdeS y genotipo) que aumentaron la cantidad de nudos en mayor medida que la oferta de radiación, se encontró una relación lineal negativa entre la eficiencia de uso de la radiación para rendimiento y la cantidad de radiación por nudo (Figura 4.13). Dicha relación fue similar a la encontrada en el Capítulo 2, pero las NIL utilizaron aproximadamente el doble de RFA_{R1-R7} por nudo para alcanzar la misma EUR_{R,RFA} alcanzada por el genotipo NA5009 en los Exp1 y 2. En los Exp3 y 4 de este capítulo, los genotipos comerciales estuvieron en el medio de ambas relaciones. Es decir, los genotipos comerciales alcanzaron valores de EUR_{R,RFA} similares a las NIL, aunque con menores valores de RFA_{R1-R7} por nudo. Dado que las NIL tienen fondos génicos de genotipos liberados en 1960 (Harosoy y Clark), al comparar los genotipos comerciales modernos con las NIL se podría sugerir que el mejoramiento genético vegetal ha seleccionado genotipos que son más eficientes en la producción de nudos por unidad de RFA en lugar de genotipos más eficientes para un mismo valor de RFA por nudo. En esta tesis (ver Figura 2.9 y Discusión del Capítulo 2) se propuso que una mayor cantidad de nudos permite hacer un uso más eficiente de los recursos ya que distiende las interferencias entre vainas que crecen en un mismo nudo. En este sentido, Messina (2003) también propone que tener una mayor cantidad de nudos les permite a las NIL más sensibles al fotoperíodo “establecer vainas simultáneamente en más sitios”. Ellis (2000) encontró que las NIL con alelos dominantes además de tener un ciclo más largo tenían una mayor eficiencia en el uso de la radiación y lo atribuyó a la duración, distribución y orientación del área foliar.

En el Capítulo 3 de la tesis, se propuso la existencia de otro mecanismo de respuesta fotoperiódica a nivel de nudo: la distribución temporal de los destinos. Dicho mecanismo también disminuiría la interferencia entre vainas que crecen en un mismo nudo reduciendo la competencia por fotoasimilados de vainas de distinta jerarquía. En el Capítulo 3, se observó que la extensión artificial del fotoperíodo retrasó la elongación de las vainas dominantes (mayor fase *lag* de vainas) extendiendo la floración a nivel de nudo y permitiendo que se abriesen más flores en los racimos laterales (posiciones usualmente dominadas) (Figura 3.5 y Cuadro 3.3). Esto, en algunas posiciones de la planta, derivó en un aumento del número de vainas por nudo.

En los Exp3 y Exp4, si bien se observó una relación positiva entre el número de flores y el número de vainas (especialmente en los racimos laterales), el número de flores no dependió de la duración de la floración, ni ésta de la duración de la fase *lag* de vainas (Cuadro 4.7) como se había observado al extender artificialmente el fotoperíodo

(Cuadro 3.3 del Capítulo 3). Dichas diferencias pueden deberse a que el rango de fase *lag* de vainas explorado utilizando las NIL y FdeS fue menor al observado al extender artificialmente el fotoperíodo (Figura 4.16). Además, tampoco se observó una asociación muy clara entre la sensibilidad fotoperiódica de las NIL y la duración de la fase *lag* de vainas (Cuadro 4.6). Por lo tanto, la distribución temporal de los destinos no fue un mecanismo de respuesta fotoperiódica post-floración en genotipos con distinta sensibilidad fotoperiódica cuando el fotoperíodo varió naturalmente como consecuencia de la fecha de siembra (a una latitud de 34°35') (Cuadro 4.7).

Extendiendo artificialmente el fotoperíodo y explorando un rango un poco más amplio de fotoperíodo (12 a 15 h) que el explorado en esta tesis, Summerfield *et al.* (1998) encontraron que el número de flores por planta estuvo fuertemente asociado a la duración de la floración (a nivel de planta), que a su vez fue más extensa en las NIL más sensibles (con más alelos dominantes *E1-E3*). Sin embargo, estas variables fueron medidas a nivel de planta y por lo tanto no es posible establecer si el número de flores y la duración de la floración fueron mayores porque las plantas tenían más nudos o porque hubo cambios a nivel de nudo. Wilcox *et al.* (1995) observaron que NIL con alelos dominantes (*E1-E3*) tenían más flores tanto a nivel de planta como a nivel de nudo comparadas con NIL que portaban alelos recesivos, sin embargo, el número de vainas por nudo fue similar y las diferencias en vainas por planta se debieron exclusivamente a las diferencias en el número de nudos por planta, al igual que en los experimentos de este capítulo.

Al único *locus* al que pudo atribuírsele un efecto sobre las variables medidas a nivel de nudo fue al *locus E1*, al menos en presencia de alelos recesivos los *loci e2, e3 y e5* (como las NIL 1 y 6 utilizadas en esta tesis). Este resultado es sorprendente ya que fue el único *locus* para el cual no se encontró un efecto significativo en la sensibilidad fotoperiódica post-floración. Las NIL utilizadas en esta tesis con alelo dominante *E1* tuvieron más flores y vainas en el racimo primario que las NIL con alelo recesivo *e1*, aumentando la relación entre el número de vainas dominantes y dominadas (*i. e.* en el racimo primario y los racimos laterales, respectivamente) (Cuadro 4.5). Por lo tanto, el efecto de un alelo *E1* vs. *e1* sobre la proporción de vainas de distinta jerarquía dentro de un nudo fue similar al del fotoperíodo natural vs. extendido en el Capítulo 3. Este resultado coincide con la proporción reproductiva del ciclo total del cultivo, que en las NIL 1 y 6 fue menor en comparación al resto de las NIL (Figura 4.5) y además fue similar a la proporción reproductiva del ciclo total del cultivo bajo fotoperíodo natural vs. extendido en el Capítulo 3.

En conclusión, en este capítulo se observó que al evaluar la respuesta fotoperiódica post-floración utilizando como fuente de variación dos fechas de siembra y genotipos con distinta sensibilidad fotoperiódica, se evidenciaron algunos de los mecanismos de generación de rendimiento observados al extender artificialmente el fotoperíodo en post-floración. En línea con los resultados previos de esta tesis y de otros autores (Kantolic y Slafer, 2001) se observó que el aumento de la oferta de radiación acumulada por la prolongación del ciclo explicó parte de la variación en el rendimiento (Figura 4.11). Se pudo atribuir un efecto diferencial a cada alelo sobre el desarrollo post-floración del cultivo (Figura 4.4 y Cuadro 4.3), pero el efecto del desarrollo sobre el rendimiento estuvo mediado por la producción de nudos para todas las NIL por igual (Figura 4.10). El aumento del número de nudos en mayor proporción que el aumento de la oferta de radiación (que disminuye la oferta de radiación por nudo) aumentó la $EUR_{R,FA}$ (Figura 4.13), posiblemente mediante el mecanismo de distribución espacial de los destinos que distiende la interferencia entre vainas de distinta jerarquía que crecen en un mismo nudo. En cambio, el mecanismo de distribución temporal de los

destinos no tuvo injerencia en la determinación del rendimiento en estas NIL con distinta sensibilidad fotoperiódica y bajo un régimen de variación fotoperiódica natural (Cuadro 4.7).

CAPÍTULO 5

5. Discusión general

5.1. Introducción

En este capítulo se retomarán los principales resultados de la tesis para construir un esquema general y se discutirá en qué medida los resultados obtenidos permiten rechazar o no las hipótesis planteadas en el Capítulo 1. Luego se destacará el aporte de dichos resultados al avance del conocimiento y sus posibles aplicaciones. Por último se plantearán nuevos interrogantes surgidos de la tesis y se sugerirán futuras líneas de investigación.

5.2. Esquema general y contraste de hipótesis

El objetivo general de esta tesis es *estudiar los mecanismos asociados a la producción de granos en soja frente a cambios en el fotoperíodo en post-floración*. Para abordar este objetivo general, se propuso *identificar dichos mecanismos* (objetivo específico (i)) y *discriminar cuáles de dichos mecanismos pueden considerarse efectos fotoperiódicos directos y cuáles resultan de diferencias en la disponibilidad de recursos (efectos indirectos)* (objetivo específico (ii)). Luego, se propuso *analizar la variabilidad genotípica para dichos mecanismos* (objetivo específico (iii)) con el fin de aportar bases fisiológicas para su utilización en programas de mejoramiento genético vegetal.

En la Figura 5.1 se presentan los tres principales mecanismos asociados a la producción de granos en soja frente a cambios en el fotoperíodo en post-floración presentes en esta tesis: el aumento de la oferta de recursos y la distribución espacial y temporal de los destinos. Tal como fue definido, el efecto fotoperiódico sobre la producción de granos a través del aumento de la oferta de recursos (como resultado de la prolongación de la oferta de recursos), es un mecanismo fotoperiódico indirecto. El efecto indirecto del fotoperíodo fue identificado por Kantolic y Slafer (2001) como el principal mecanismo de respuesta al fotoperíodo cuando éste fue extendido desde R3 en adelante. En esta tesis, en la cual el fotoperíodo fue extendido más temprano (*i. e.* desde R1 en adelante), se identificaron dos nuevos mecanismos involucrados en el incremento del número de granos al fotoperíodo: la distribución espacial y temporal de los destinos. Estos mecanismos fueron considerados efectos fotoperiódicos directos, ya que fueron independientes del aumento de la oferta de recursos. El mecanismo ecofisiológico vinculado a estos efectos fotoperiódicos directos sobre la producción de granos fue la distención de la interferencia entre vainas que crecen en un mismo nudo.

Por un lado, la exposición de cultivos de soja de hábito indeterminado a condiciones de día largo en post-floración aumentó el rendimiento al aumentar la producción de biomasa por unidad de superficie (Figura 2.3). Si bien se observó que los días largos retrasaron el inicio de la partición de biomasa hacia estructuras reproductivas (Figura 2.4), el índice de cosecha no fue afectado por el fotoperíodo (Cuadro 2.2). Por lo tanto, no se rechaza la hipótesis 1.a que propone que: *“la exposición de cultivos de soja de hábito indeterminado a condiciones de día largo en post-floración aumenta el rendimiento porque aumenta la producción de biomasa por unidad de superficie sin modificar el índice de cosecha del cultivo”*.

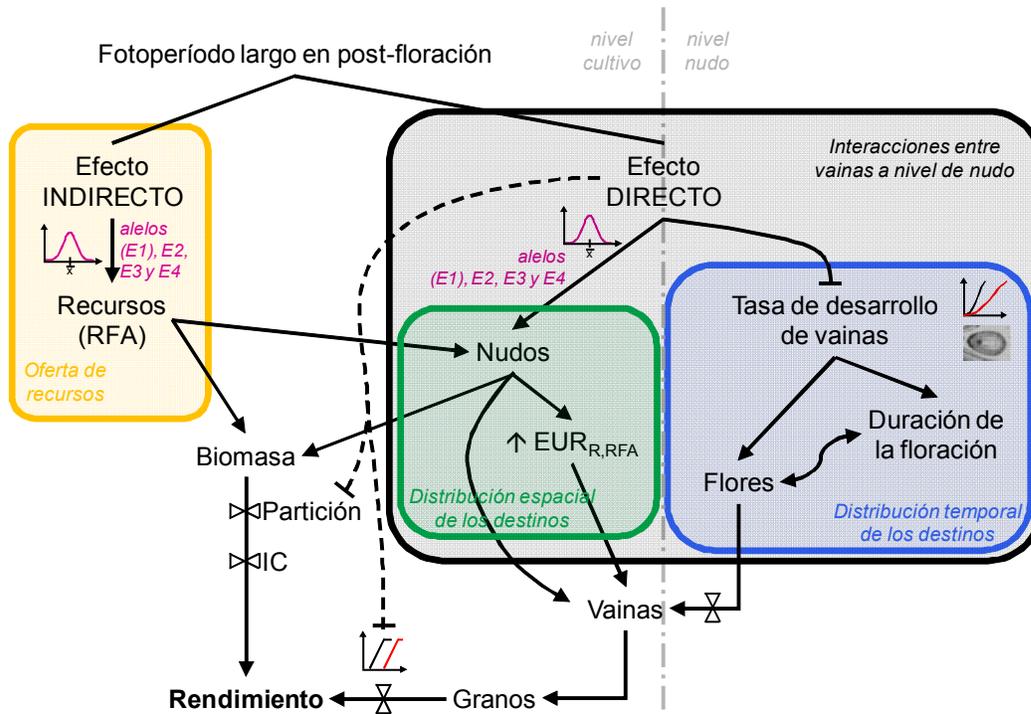


Figura 5.1. Esquema general de los principales mecanismos asociados a la producción de granos en soja frente a cambios en el fotoperíodo en post-floración identificados en esta tesis. La línea gris de guiones y puntos separa los mecanismos observados a nivel de cultivo y nudo. Las flechas continuas representan efectos fotoperiódicos que afectaron el rendimiento y las líneas punteadas, efectos fotoperiódicos que no afectaron el rendimiento.

Se observó una relación significativa entre la duración del ciclo, la captura de radiación, la producción de biomasa y el rendimiento (Figura 2.3). Por lo tanto no se rechaza la hipótesis 4 que plantea que: “*la exposición de cultivos de soja de hábito indeterminado a condiciones de día largo en post-floración aumenta el rendimiento a través de su efecto indirecto sobre la producción de biomasa, resultado de la prolongación de la oferta de recursos*”. Sin embargo, también se encontraron evidencias de efectos fotoperiódicos directos sobre la producción de biomasa, ya que los tratamientos con fotoperíodo extendido produjeron más biomasa que los tratamientos con fotoperíodo natural por cada unidad de radiación capturada y acumulada durante el ciclo del cultivo (Figura 2.3). Este efecto no parece estar asociado a la capacidad fotosintética de las plantas, sino a la eficiencia en el uso de la radiación a partir de R3 cuando comienza la activa acumulación de biomasa en estructuras reproductivas (Figura 2.9) y a la cantidad de nudos producidos (Figura 2.7). De este modo, es posible no rechazar la hipótesis 1.b que propone que: “*La exposición de cultivos de soja de hábito indeterminado a condiciones de día largo en post-floración aumentó el rendimiento al aumentar la producción de nudos por unidad de superficie*”. Sorprendentemente, la asociación entre el número de granos y los nudos por m² fue más estrecha que su asociación con la biomasa total aérea (Figura 2.7).

Dichos resultados conducen a la hipótesis 5 que plantea que: “*la exposición de cultivos de soja de hábito indeterminado a condiciones de día largo en post-floración aumenta el rendimiento a través de su efecto directo sobre la producción de nudos*”. Esta hipótesis tampoco se rechaza ya que se encontró una relación estrecha entre la cantidad de nudos y el tiempo a R6 (Figura 2.6) y por lo tanto también corrobora la existencia de efectos directos en la respuesta fotoperiódica durante post-floración. Sin

embargo, también se encontraron efectos indirectos del fotoperíodo sobre la producción de nudos, resultado de la prolongación de la oferta de radiación. Se propuso una metodología para discriminar y cuantificar los efectos fotoperiódicos directos e indirectos sobre la producción de nudos (Figura 2.8). Primero se estimó el efecto indirecto a partir de los tratamientos con fotoperíodo natural y distinta disponibilidad de radiación. Luego se calculó el efecto fotoperiódico directo como la diferencia entre la cantidad de nudos observados y la cantidad estimada por efecto indirecto. En esta tesis, se encontró que el efecto fotoperiódico directo sobre la producción de nudos fue de mayor magnitud que el efecto indirecto (Cuadro 2.5).

A nivel de nudo, la hipótesis 2.a plantea que: *“la exposición de cultivos de soja de hábito indeterminado a condiciones de día largo en post-floración aumentó el número de granos porque prolongó la floración (Cuadro 3.3 y Figura 3.6) y aumentó el número de flores a nivel de nudo”* (Cuadro 3.1) lo que fue corroborado a lo largo de la tesis por lo que no se rechaza dicha hipótesis. Además, se identificó que dicha respuesta ocurrió en los racimos laterales del nudo, que son estructuras comúnmente dominadas por las primeras vainas que aparecen en el racimo primario (Figura 3.1). No se observaron efectos fotoperiódicos sobre el cuaje (Cuadro 3.3). Por lo tanto se rechaza la hipótesis 2.b que plantea que: *“la exposición de cultivos de soja de hábito indeterminado a condiciones de día largo en post-floración aumenta el número de granos por nudo porque incrementa la proporción de flores que prosperan en vainas”*.

A nivel de nudo, no se rechaza la hipótesis 6.a que plantea que: *“la exposición de cultivos de soja de hábito indeterminado a condiciones de día largo en post-floración aumentó el número de granos a través de su efecto directo porque prolongó la floración y aumentó el número de flores por nudo”* (Cuadro 3.1, Figura 3.5 y Cuadro 3.3). Se encontró además, que el efecto fotoperiódico sobre la duración de la floración estuvo relacionado con su efecto sobre el desarrollo de las vainas dominantes. Los días largos prolongaron la fase *lag* de vainas dominantes, retrasando el inicio de su elongación (y demanda de fotoasimilados), pero no afectaron su posterior tasa de elongación y crecimiento (Figura 3.3 y Cuadro 3.2). Tampoco afectó el desarrollo de los embriones durante la elongación de las vainas, que había sido “detenido” durante la fase *lag* de vainas (Figura 3.4). La floración continuó hasta el inicio del llenado efectivo de granos en el nudo, permitiendo que se abriesen más flores en los racimos laterales (que son estructuras generalmente dominadas por las vainas de los racimos primarios).

La hipótesis 6.b plantea que: *“la exposición de cultivos de soja de hábito indeterminado a condiciones de día largo en post-floración aumenta el número de granos por nudo a través de su efecto directo porque disminuye la interferencia entre órganos de distinta jerarquía que crecen en un mismo nudo, aumentando el cuaje de vainas”*. Esta hipótesis se rechaza ya que se observó que los días largos aumentaron el número de granos por nudo a través de su efecto sobre el número de flores abiertas y no aumentaron el porcentaje de cuaje de vainas (Cuadro 3.3). Si bien se observó un *efecto fotoperiódico directo que disminuye la interferencia entre órganos de distinta jerarquía*, éste actuaría prolongando la floración y permitiendo que se abran más flores en lugar de promover el porcentaje de cuaje de vainas. A su vez, se observó que esta respuesta tiene un óptimo, ya que la prolongación excesiva de la fase *lag* provoca disminuciones en el cuaje de las vainas dominantes que no son compensados por el establecimiento de vainas en posiciones dominadas. Este efecto fotoperiódico directo observado a nivel de nudo tiene un menor impacto sobre el rendimiento del cultivo que el efecto fotoperíodo directo sobre la producción de nudos por unidad de superficie.

Los resultados de esta tesis muestran que, si bien los días largos retrasaron el inicio

del llenado efectivo de granos, el efecto fotoperiódico sobre la tasa de llenado y el peso final de los granos fue variable en distintas posiciones de la planta (Figura 2.5 y Cuadro 2.3). Como resultado, los granos tendieron a ser más livianos bajo fotoperíodo extendido en comparación con el fotoperíodo natural (Cuadro 2.2), pero las diferencias no fueron significativas. Por lo tanto se rechaza la hipótesis 3 que plantea que: “*la exposición de cultivos de soja de hábito indeterminado a condiciones de día largo en post-floración disminuye el peso individual de los granos, pero no existe una compensación completa entre número y peso de granos, ya que fuente y destinos aumentan en paralelo*”. Sin embargo, sí se observó que fuente y destinos aumentan en paralelo, ya que la relación fuente/destino en R6 fue igual entre tratamientos fotoperiódicos.

El último objetivo específico de la tesis fue *analizar la variabilidad en líneas casi isogénicas (NIL) y genotipos comerciales de soja liberados recientemente al mercado argentino, para aquellos mecanismos identificados en el primer objetivo*. En relación a dicho objetivo, se encontró variabilidad genotípica para los mecanismos vinculados directa e indirectamente a la respuesta fotoperiódica post-floración a nivel de cultivo (Figura 4.10-Figura 4.13), pero no se encontró variabilidad para los mecanismos propuestos a nivel de nudo (Cuadro 4.7). Por lo tanto se rechaza parcialmente la hipótesis 7 que plantea que “*existe variabilidad genotípica para los mecanismos vinculados directa o indirectamente a la respuesta fotoperiódica post-floración*”. La falta de variabilidad a nivel de nudo puede deberse tanto a la inexistencia de variabilidad genotípica como al menor rango explorado en la duración de la fase *lag* de vainas (Figura 4.16), que fue identificada como la variable desencadenante de la disminución de la interferencia entre vainas de distinta jerarquía que crecen en un mismo nudo.

La hipótesis 8 plantea que: “*en aquellas NIL o genotipos comerciales de soja en los que están presentes dichos mecanismos, el número de granos producidos es mayor que en aquellos genotipos en los que dichos mecanismos no se expresan*” se rechaza parcialmente. En línea con la hipótesis, en las NIL y genotipos comerciales el aumento de la sensibilidad fotoperiódica, prolongó la duración de la etapa post-floración (Cuadro 4.3) y permitió aumentar el rendimiento a través de efectos directos e indirectos sobre la producción de nudos (Figura 4.10). Sin embargo, una mayor duración relativa de la etapa post-floración en relación al ciclo total del cultivo (otro mecanismo propuesto) (Figura 4.5), no resultó en un aumento del rendimiento en las NIL que no tienen el alelo *E1* (Cuadro 4.1 y Cuadro 4.4). Por lo tanto, la presencia de los mecanismos identificados en el primer objetivo aumentó el rendimiento sólo para algunos de dichos mecanismos.

Por último, se rechaza parcialmente la hipótesis 9 que plantea que: “*la magnitud de los efectos fotoperiódicos directos fue mayor en las NIL o genotipos comerciales de soja con mayor sensibilidad fotoperiódica post-floración*” ya que se observó dicha respuesta en los genotipos comerciales pero no en las NIL (Figura 4.12).

5.3. Contribución al avance del conocimiento

5.3.1. Generación del rendimiento

La generación del rendimiento en el cultivo de soja está fuertemente ligada a la captura de recursos, generación de biomasa y partición a estructuras reproductivas y a la producción de nudos, vainas y granos. En esta tesis se ha demostrado que la extensión del fotoperíodo a partir de R1, retrasa el inicio de la partición de fotoasimilados a estructuras reproductivas pero que una vez que se inicia la partición (alrededor de R3), lo hace en igual proporción que bajo fotoperíodo natural. El retraso en el inicio de la partición, permite que se sigan produciendo nudos y se genere biomasa activamente en el cultivo. En contraste, la aparición de flores dentro de los racimos y a lo largo del tallo no se ve afectada cuando el fotoperíodo se extiende una vez iniciada la floración. Por lo tanto, la generación de fuente y destino de fotoasimilados continúa en forma paralela y en R6 (en el momento de pleno llenado de granos), la relación fuente/destino es similar para los distintos tratamientos de fotoperíodo.

Por otro lado, se ha demostrado la existencia de efectos fotoperiódicos directos e indirectos en la determinación del rendimiento. El efecto fotoperiódico indirecto, a través de la prolongación de la oferta de recursos coincide con el mecanismo propuesto por Kantolic y Slafer (2001). Sin embargo, los posibles efectos directos del fotoperíodo no habían sido descritos ni cuantificados en el cultivo de soja. El mecanismo ecofisiológico propuesto como responsable del efecto directo del fotoperíodo es la disminución de la interferencia entre vainas que crecen en un mismo nudo. Por un lado, el efecto directo del fotoperíodo sobre la producción de nudos por unidad de superficie. Esto permite la distribución espacial de los destinos en distintos nudos y disminuye la interferencia entre vainas que crecen en un mismo nudo. Por otro lado, el fotoperíodo afecta el desarrollo de las vainas dominantes dentro de un nudo, postergando su elongación y demanda de asimilados. Esto prolonga la floración y permite que se abran más flores en posiciones normalmente dominadas dentro del nudo.

En esta tesis se observó que la disminución de la disponibilidad de asimilados por nudo como resultado del aumento de la cantidad de nudos por unidad de superficie en mayor medida que el aumento de la radiación acumulada (por el efecto fotoperiódico directo sobre la producción de nudos) permite hacer un uso más eficiente de los recursos. Dicha relación, también permite explicar resultados de otros trabajos, en los cuales la relación entre la radiación y el número de nudos fue modificada mediante tratamientos de defoliación (Quijano y Morandi, 2011). Por lo tanto, en esta tesis se brindan elementos para afirmar que la producción de nudos permite aumentar el rendimiento más allá de su efecto sobre la generación de área foliar y la intercepción de radiación (Egli, 2013).

5.3.2. Control fotoperiódico del desarrollo de vainas

Existen pocos trabajos que reporten el efecto del fotoperíodo sobre el desarrollo individual de flores, frutos y semillas de soja. Algunos de ellos se centran en el efecto fotoperiódico sobre el desarrollo de primordios florales (Borthwick y Parker, 1938; Fukui *et al.*, 1962; Thomas y Raper, 1983, 1984), la aparición de flores (van Schaik y Probst, 1958) y su reversión (Han *et al.*, 1998; Washburn y Thomas, 2000) y la elongación de las vainas (Zheng *et al.*, 2003; Zheng *et al.*, 2004). Otros estudiaron el efecto del fotoperíodo sobre el crecimiento de las semillas (Morandi *et al.*, 1988; Morandi *et al.*, 1990; Thomas y Raper, 1976). Además, pocos han logrado relacionar dichos efectos con la generación de rendimiento a nivel de planta (van Schaik y Probst, 1958) y ninguno lo ha hecho a nivel de cultivo.

En esta tesis se ha avanzado en la caracterización de los efectos fotoperiódicos sobre

la floración, fructificación y llenado de granos de frutos en distintos racimos y posiciones del tallo principal. Se identificó a la fase *lag* de vainas como la etapa más sensible al fotoperíodo y, a su vez, de gran relevancia en la generación de rendimiento a nivel de nudo. A su vez, se observó una coincidencia en el desarrollo reproductivo externo (vainas) e interno (embriones) que indicaría que la elongación de las vainas se retrasa debido a una “señal” fotoperiódica (o debido a la ausencia de la misma) y no debido a la falta de asimilados.

5.3.3. Variabilidad genotípica

Además de la identificación de mecanismos asociados a la respuesta fotoperiódica en post-floración, en esta tesis se ha demostrado que existe variabilidad genotípica para dichos mecanismos. Esto resulta de suma importancia para poder utilizar los mecanismos propuestos con fines productivos, ya que la extensión artificial del fotoperíodo en sistemas de producción extensivos no es una alternativa viable. Se ha demostrado que, al menos para algunos de los mecanismos propuestos, las respuestas fotoperiódicas observadas al extender artificialmente el fotoperíodo, también se observan en genotipos con mayor sensibilidad fotoperiódica.

5.4. Aplicación

5.4.1. Mejoramiento genético

Como se describió en el punto 4.3.3, algunos de los mecanismos fotoperiódicos asociados a la producción de granos identificados en esta tesis, podrían ser incorporados en programas de mejoramiento vegetal, ya que presentan variabilidad genotípica. Por lo tanto, se puede pensar en la búsqueda de un ideotipo que combine los mecanismos fotoperiódicos encontrados. Por ejemplo, se podría diseñar un genotipo que florezca temprano para que comience la producción de destinos, pero que continúe produciendo nudos por mucho tiempo para que continúe la generación de fuente. A su vez, sería deseable diseñar un genotipo para el cual, dentro de cada nudo, la fase *lag* sea considerablemente larga como para permitir que se abran flores y fijen vainas en los racimos laterales, sin perjudicar el cuaje en los racimos primarios.

5.4.2. Modelos de simulación

Las nuevas relaciones descriptas en esta tesis, y su modulación por parte del fotoperíodo, podrían ser incorporadas en modelos de simulación. En primera instancia deberían ser verificadas utilizando otros genotipos y ambientes, y luego podrían mejorar la capacidad de predicción de los modelos existentes. Por ejemplo, se podría incorporar en el modelo del cultivo de soja a nivel de cultivo CROPGRO-soybean (Boote *et al.*, 1998) la relación entre el número de nudos y el rendimiento encontrada en esta tesis, independiente de la eficiencia de interceptación de radiación. Por otro lado, podrían incorporarse las relaciones encontradas entre la duración de la fase *lag*, la floración, el número de flores y vainas en los modelos de simulación a nivel de nudo (SOYPOD; Egli, 2010b) y planta (SOYPODP; Egli, 2015).

5.5. Nuevos interrogantes y futuras líneas de investigación

5.5.1. Genes involucrados en la respuesta fotoperiódica post-floración

Con el gran avance de la biotecnología, se han generado nuevas herramientas que permiten identificar los genes involucrados en la respuesta fotoperiódica post-floración y su regulación. Recientemente se ha secuenciado el genoma de soja (Kim *et al.*, 2010; Schmutz *et al.*, 2010) y se han encontrado genes homólogos a los genes involucrados en la floración de *Arabidopsis* (Kong *et al.*, 2010; Watanabe *et al.*, 2012; Watanabe *et al.*, 2011). Además, se ha propuesto o redefinido la función biológica de la mayoría de los genes mayores *E* (Thakare *et al.*, 2011; Xia *et al.*, 2012a; Xu *et al.*, 2013) y se han identificado QTL asociados a la respuesta fotoperiódica post-floración (Cheng *et al.*, 2011). De la mano de estos y futuros avances, seguramente se podrá entender la regulación génica de procesos desencadenados por el fotoperíodo en post-floración, como por ejemplo, el inicio de la elongación de vainas o el cese de la aparición de nudos en el tallo principal y las ramas de cultivares indeterminados de soja. Además, sería interesante poder identificar las distintas vías mediante las cuales el fotoperíodo actúa en pre y en post-floración para poder modificar la respuesta post-floración con fines productivos sin afectar el tiempo a floración.

5.5.2. Características de la interacción intra-nodal entre vainas

En esta tesis se propusieron dos nuevos mecanismos de respuesta al fotoperíodo en post-floración que disminuirían la interferencia entre vainas de distinta jerarquía que crecen en un mismo nudo. Se ha propuesto que dicha interferencia es una mera competencia por fotoasimilados (Charles-Edwards *et al.*, 1986). Es decir, que las vainas dominantes en activo crecimiento actúan como destinos preferenciales de fotoasimilados, privando de los mismos a las vainas dominadas. Sin embargo, a nivel de nudo la relación entre el número de vainas o granos y la disponibilidad de fotoasimilados es curvilínea (Bruening y Egli, 1999; Bruening y Egli, 2000). Además, algunos trabajos han identificado signos de aborto muy tempranos en vainas dominadas, cuando todavía su demanda de fotoasimilados es muy baja (Brun y Betts, 1984). Por lo tanto, existe la posibilidad de que las vainas dominantes produzcan alguna señal que inhiba el crecimiento o desencadene el aborto de las vainas dominadas, tal como ocurre en otras especies (Cárcova *et al.*, 2000).

En paralelo con los experimentos de esta tesis, se realizaron algunos ensayos preliminares en esta línea, para determinar si la interacción entre vainas que crecen en un mismo nudo es competencia (por fotoasimilados) o inhibición (mediada por señales químicas). Por un lado, se ralearon vainas dominantes en diferentes estados de desarrollo para eliminar cualquier tipo de interferencia (competencia e inhibición). Por otro lado, se restringió físicamente el crecimiento de vainas dominantes para disminuir su demanda de fotoasimilados y por lo tanto, disminuir la competencia pero mantener posibles inhibiciones químicas. Estos tratamientos se compararon con situaciones testigo sin ninguna manipulación. Los resultados son prometedores e indican que al disminuir el crecimiento de vainas dominantes aumenta el establecimiento de vainas en el nudo (aunque los granos de las vainas restringidas son de mucho menor tamaño) (Nico *et al.*, 2011). Además, se identificó que las vainas dominadas son capaces de reanudar su crecimiento aun cuando las vainas dominantes son raleadas al inicio del llenado efectivo de granos. Es decir que la interferencia es reversible y requiere de la permanencia de la vaina dominante. Vale la pena continuar con estos ensayos y avanzar en la identificación de posibles sustancias inhibitorias.

5.5.3. Rol de las hormonas y azúcares

Durante mucho tiempo se postuló la existencia de un florígeno, es decir una

molécula que se transmite desde las hojas hasta los meristemas y desencadena la floración. Hoy en día se acepta que la proteína FT actúa como florígeno en respuesta al fotoperíodo. Sin embargo, aún no se sabe a través de cuál o cuáles moléculas el fotoperíodo regula el desarrollo post-floración. Podría ser también a través de la proteína FT, fitohormonas o azúcares que actúan como señales en la planta. Se ha demostrado que las citoquininas (Noodén y Letham, 1993), el ácido abscísico (Liu *et al.*, 2004; Noodén y Obermeyer, 1981), ácido indolacético (Huff y Dybing, 1980) y la sacarosa (Borisjuk *et al.*, 2004) intervienen en algunos de los procesos afectados por el fotoperíodo en post-floración tales como la senescencia (Noodén *et al.*, 1990), el crecimiento de los frutos y semillas (Morandi *et al.*, 1990) y el aborto de flores (Nagel *et al.*, 2001). Por lo tanto, sería interesante investigar si el fotoperíodo regular dichos procesos por las mismas vías o en forma independiente.

5.5.4. Corroboración de los efectos fotoperiódicos directos en genotipos determinados

El hábito de crecimiento define, junto con el fotoperíodo, la cantidad de nudos en el tallo principal. En los genotipos de hábito de crecimiento determinado la aparición de nudos en el tallo principal cesa poco tiempo después de la floración (Nagata, 1960) y continúan produciendo nudos en las ramas. Por lo tanto, la distribución de biomasa y rendimiento entre el tallo principal y las ramas difiere entre genotipos de distinto hábito de crecimiento. Ya que el hábito de crecimiento modifica la distribución espacial de los nudos dentro del canopeo, y que parte del efecto fotoperiódico directo está relacionado con la distribución espacial de los destinos, sería interesante corroborar dicho efecto en otros genotipos determinados. Dado que la regulación génica del hábito de crecimiento es muy sencilla (dos genes con dos alelos cada uno) (Bernard, 1972) es fácil obtener isolíneas para dicho carácter. Además, dado que el hábito de crecimiento también afecta la superposición de las subetapas reproductivas (la floración, fructificación y llenado se superponen menos en genotipos determinados) (Nagata, 1967), el efecto aliviador del fotoperíodo sobre la competencia entre vainas podría ser distinto. En conclusión, dado que el fotoperíodo y el hábito de crecimiento co-regulan procesos dentro de la planta y que la aproximación metodológica para estudiar el efecto del hábito de crecimiento es relativamente sencilla, sería interesante validar en genotipos determinados los efectos fotoperiódicos directos observados en esta tesis (en genotipos indeterminados).

5.5.5. Condiciones no potenciales de crecimiento

Como se planteó en la introducción, una de las alternativas para poder mantener la tendencia en aumento de la producción de soja, es desarrollar innovaciones tecnológicas que permitan aumentar el rendimiento potencial del cultivo (Specht *et al.*, 1999). En esa línea fue concebida esta tesis. Sin embargo, en Argentina existe una brecha del 32% entre el rendimiento potencial y el rendimiento alcanzado (Monzón *et al.*, 2013) ya que rara vez las condiciones de producción garantizan la expresión del potencial de rendimiento. Por lo tanto resulta interesante evaluar el comportamiento de los mecanismos fotoperiódicos identificados en esta tesis, en condiciones de de crecimiento no potenciales.

Recientemente, en un taller de estreses en el cultivo de soja (Nico, 2015) se discutió el uso de estos “*Mecanismos asociados al establecimiento de granos en soja frente a cambios en el fotoperíodo en post-floración como herramientas para desarrollar nuevas estrategias de evasión o mitigación de estreses abióticos y bióticos*”. *A priori*, pareciera que los mecanismos fotoperiódicos que permiten hacer un uso más eficiente de la radiación (al modificar la dinámica espacial y temporal de los destinos y disminuir la interferencia intra-nodal entre vainas) también permitirían hacer un uso más eficiente

de otros recursos como el agua y por lo tanto resultarían útiles en condiciones limitadas por dicho recurso. Por otro lado, la mayor producción de nudos (y hojas) en respuesta a los días largos, también podría resultar en una mayor tolerancia a enfermedades o plagas que reduzcan el área foliar del cultivo. Sería interesante poner a prueba estas hipótesis en experimentos *ad hoc*.

5.5.6. Efecto fotoperiódico sobre la oferta y demanda de asimilados a nivel de nudo

Dado que las relaciones entre vainas a nivel de nudo son muy importantes en el cultivo de soja y que el fotoperíodo modifica la oferta de recursos, la cantidad de nudos y la dinámica de las vainas, resulta interesante estudiar en mayor profundidad el efecto fotoperiódico sobre la oferta y demanda de asimilados a nivel de nudo. En primer lugar, sería interesante caracterizar la oferta de fotoasimilados, en distintas posiciones del canopeo, a partir de la fotosíntesis de la hoja, el movimiento de asimilados entre nudos y la acumulación de carbohidratos de reserva en el entrenudo, pecíolo y lámina. En segundo lugar, sería interesante caracterizar la demanda de fotoasimilados a nivel de nudo a partir de la demanda individual de frutos en distintos estados de desarrollo, su dinámica de aparición dentro de los racimos del nudo y las interacciones entre frutos de distinta jerarquía.

5.5.7. Modelos de simulación

Resulta difícil determinar la importancia relativa de los distintos mecanismos fotoperiódicos (*i. e.* aumento de la radiación acumulada, distribución espacial y temporal de los destinos), ya que al manipular el fotoperíodo todos estos cambios ocurren simultáneamente. Por ello, sería muy útil evaluar el efecto de cada uno de los mecanismos en modelos de simulación. El modelo CROPGRO-soybean (Boote *et al.*, 1998), que simula un cultivo de soja, ha sido utilizado con éxito para evaluar el mecanismo fotoperiódico indirecto (Kantolic *et al.*, 2007). Sin embargo, dicho modelo no permite evaluar los mecanismos fotoperiódicos directos que requieren de la simulación de las interacciones entre vainas que crecen en un mismo nudo.

Los modelos de simulación SOYPOD (Egli, 2010b) y SOYPODP (Egli, 2015) simulan un nudo y una planta de soja, respectivamente, y permiten evaluar la importancia de una serie de procesos involucrados en el establecimiento de vainas. Mediante el uso del modelo, se ha determinado que cambios sustanciales ($\pm 40\%$) en la fotosíntesis provocaron cambios moderados en la cantidad de vainas por planta (rango de -20% a $+12\%$). En contraste, cambios importantes ($\pm 50\%$) en la duración de la fase *lag* de crecimiento de vainas (que en el modelo modifican su demanda diaria de fotoasimilados) provocaron cambios más que proporcionales (rango de -60% a $+110\%$) en el número de vainas por planta. Paralelamente, el aumento de la cantidad de flores simuladas por el modelo también produjo incrementos en el número de vainas por planta, especialmente cuando se prolongaba la duración de la floración. Como se ha demostrado en esta tesis, todos estos procesos descritos son sensibles a la manipulación fotoperiódica; sin embargo, el fotoperíodo no está contemplado en el modelo original.

Resultaría interesante evaluar los mecanismos fotoperiódicos directos propuestos en esta tesis en el modelo de simulación SOYPODP. Sería factible determinar la importancia relativa de la distribución espacial y temporal de los destinos. Además, se podría evaluar su comportamiento en distintos escenarios de provisión de asimilados en línea con lo propuesto en el punto 5.5.4.

5.6. Conclusiones

El aumento del rendimiento del cultivo de soja, el más relevante de la Argentina (por la superficie cultivada, producción y exportación), se ha estancado en los últimos años. La producción de granos en soja depende —además de factores ambientales vinculados al crecimiento del cultivo (*e. g.* radiación, agua y nutrientes)—, de factores relacionados con el desarrollo como el fotoperíodo explorado durante post-floración. Por lo tanto, comprender los mecanismos responsables de dicha respuesta resulta interesante para contribuir a mantener en aumento el rendimiento del cultivo de soja. Además, identificar dentro de dichos mecanismos, aquellos independientes de la disponibilidad de recursos (efectos fotoperiódicos directos), permite aumentar la eficiencia de utilización de recursos para producir rendimiento. Por otro lado, es necesario que exista variabilidad genotípica para dichos mecanismos, para que puedan ser adoptados en programas de mejoramiento vegetal.

En esta tesis, se identificaron efectos fotoperiódicos directos sobre la producción de granos, vinculados a la distención de la interferencia entre vainas que crecen en un mismo nudo. La distribución espacial de los destinos en diferentes nudos —mecanismo que presentó variabilidad genotípica—, reveló un rol importante del número de nudos por unidad de superficie sobre la producción de granos, más allá de su efecto sobre la generación de área foliar y la intercepción de recursos. Por otro lado, la distribución temporal de los destinos, resultante del retraso del desarrollo de las vainas dominantes, permitió establecer vainas en posiciones normalmente dominadas dentro de las plantas. Sin embargo, la variabilidad genotípica que se encontró para dicho mecanismo no fue suficiente para aumentar la producción de granos bajo condiciones de fotoperíodo natural.

Los resultados de esta tesis brindan nuevos aportes al conocimiento de la respuesta fotoperiódica post-floración de cultivo de soja. Aún quedan preguntas pendientes, especialmente orientadas a la caracterización de la interferencia entre vainas que crecen en un mismo nudo, la identificación de genes y señales involucradas y la verificación de los mecanismos en condiciones no potenciales de crecimiento. Por otro lado, los mecanismos ecofisiológicos vinculados a la respuesta fotoperiódica, también resultan útiles para comprender la respuesta a otros factores que modifican la producción de nudos y/o la interferencia entre vainas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abe, J; Xu, D; Miyano, A; Komatsu, K; Kanazawa, A y Shimamoto, Y. 2003. Photoperiod-insensitive japanese soybean landraces differ at two maturity loci. *Crop Science* 43:1300-1304.
- Abernethy, RH; Palmer, RG; Shibles, R y Anderson, IC. 1977. Histological observations on abscising and retained soybean flowers. *Canadian Journal of Botany* 57:713-716.
- Andrade, FH; Sala, RG; Pontaroli, AC y León, A. 2009. Integration of biotechnology, plant breeding and crop physiology: Dealing with complex interactions from a physiological perspective, p. 267-276. *En: Sadras, VO y Calderini, DF, (eds.) Crop physiology: Applications for genetic improvement and agronomy.* Academic Press, San Diego.
- Andrés, F y Coupland, G. 2012. The genetic basis of flowering responses to seasonal cues. *Nature Reviews Genetics* 13:627-639.
- Asumadu, H; Summerfield, RJ; Ellis, RH y Qi, A. 1998. Variation in the durations of the photoperiod-sensitive and photoperiod-insensitive phases of post-first flowering development in maturity isolines of soyabean [*Glycine max* (L.) Merrill] 'Clark'. *Annals of Botany* 82:773-778.
- Balzarini, MG; Gonzalez, L; Tablada, M; Casanoves, F; Di Rienzo, JA y Robledo, CW. 2008. Coeficientes de sendero (path analysis), p. 146. *Manual del Usuario.* Editorial Brujas, Córdoba, Argentina.
- Ball, RA; McNew, RW; Vories, ED; Keisling, TC y Purcell, LC. 2001. Path analyses of population density effects on short-season soybean yield. *Agronomy journal* 93:187-195.
- Bellaloui, N; Smith, JR; Ray, JD y Gillen, AM. 2009. Effect of maturity on seed composition in the early soybean production system as measured on near-isogenic soybean lines. *Crop Science* 49:608-620.
- Bernard, RL. 1971. Two major genes for time of flowering and maturity in soybeans. *Crop Science* 11:242-244.
- Bernard, RL. 1972. Two genes affecting stem termination in soybean. *Crop Science* 12:235-239.
- Bernier, G; Havelange, A; Houssa, C; Petitjean, A y Lejeune, P. 1993. Physiological signals that induce flowering. *The Plant Cell* 5:1147-1155.
- Board, JE y Tan, Q. 1995. Assimilatory capacity effects on soybean yield components and pod number. *Crop Science* 35:846-851.
- Board, JE; Wier, AT y Boethe, DJ. 1995. Source strength influence on soybean yield formation during early and late reproductive development. *Crop Science* 35:1114-1110.
- Bonato, ER y Vello, NA. 1999. *E6*, a gene conditioning early flowering and maturity in soybeans. *Genetics and Molecular Biology* 22:229-232.
- Boote, KJ; Jones, JW; Hoogenboom, G y Pickering, NB. 1998. The CROPGRO model for grain legumes, p. 99-128. *En: Tsuji, G et al., (eds.) Understanding options for agricultural production. System approaches for sustainable agricultural development 7.* Springer Netherlands.
- Borisjuk, L; Rolletschek, H; Radchuk, R; Weschke, W; Wobus, U y Weber, H. 2004. Seed development and differentiation: a role for metabolic regulation. *Plant Biology* 6:375-389.

- Borrás, L; Slafer, GA y Otegui, ME. 2004. Seed dry weight response to source–sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. *Field Crops Research* 86:131-146.
- Borthwick, HA y Parker, MM. 1938. Influence of photoperiods upon the differentiation of meristems and the blossoming of Biloxi soybeans. *Botanical Gazette* 99:825-839.
- Brink, M. 1997. Rates of progress towards flowering and podding in Bambara Groundnut (*Vigna subterranea*) as a function of temperature and photoperiod. *Annals of Botany* 80:505-513.
- Bruening, WP y Egli, DB. 1999. Relationship between photosynthesis and seed number at phloem isolated nodes in soybean. *Crop Science* 39:1769-1775.
- Bruening, WP y Egli, DB. 2000. Leaf starch accumulation and seed set at phloem-isolated nodes in soybean. *Field Crops Research* 68:113-120.
- Brun, WA y Betts, KJ. 1984. Source/sink relations of abscising and nonabscising soybean flowers. *Plant Physiology* 75:187-191.
- Buzzell, RI. 1971. Inheritance of a soybean flowering response to fluorescent-daylength conditions. *Genome* 13:703-707.
- Buzzell, RI y Voldeng, HD. 1980. Inheritance of insensitivity to long daylength. *Soybean Genetics Newsletter* 7:26-29.
- Caffaro, SV y Nakayama, F. 1988. Vegetative activity of the main stem terminal bud under photoperiod and flower removal treatments in soybean. *Australian Journal of Plant Physiology* 15:475-480.
- Calviño, PA; Sadras, VO y Andrade, FH. 2003. Quantification of environmental and management effects on the yield of late-sown soybean. *Field Crops Research* 83:67-77.
- Cárcova, J; Uribealrea, M; Borrás, L; Otegui, ME y Westgate, ME. 2000. Synchronous pollination within and between ears improves kernel set in maize. *Crop Science* 40:1056-1061.
- Carlson, JB y Lersten, NR. 2004. Reproductive morphology, p. 59-95. *En: Boerma, HR y Specht, JE, (eds.) Soybeans: Improvement, Production, and Uses. Agronomy Monograph American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison.*
- Cober, ER y Voldeng, HD. 2001. A new soybean maturity and photoperiod-sensitivity locus linked to E1 and T. *Crop Science* 41:698-701.
- Cober, ER y Morrison, MJ. 2010. Regulation of seed yield and agronomic characters by photoperiod sensitivity and growth habit genes in soybean. *Theoretical and Applied Genetics* 120:1005-1012.
- Cober, ER; Tanner, JW y Voldeng, HD. 1996a. Soybean photoperiod-sensitivity loci respond differentially to light quality. *Crop Science* 36:606-610.
- Cober, ER; Tanner, JW y Voldeng, HD. 1996b. Genetic control of photoperiod response in early-maturing near-isogenic soybean lines. *Crop Science* 36:601-605.
- Cober, ER; Stewart, DW y Voldeng, HD. 2001. Photoperiod and temperature responses in early-maturing, near-isogenic soybean lines. *Crop Science* 41:721-727.
- Cober, ER; Molnar, SJ; Charette, M y Voldeng, HD. 2010. A new locus for early maturity in soybean. *Crop Science* 50:525-527.
- Cooper, RL. 2003. A delayed flowering barrier to higher soybean yields. *Field Crops Research* 82:27-35.
- Corbesier, L; Vincent, C; Jang, S; Fornara, F; Fan, Q; Searle, I; Giakountis, A; Farrona, S; Gissot, L; Turnbull, C, *et al.* 2007. Arabidopsis signaling in floral induction of FT protein movement contributes to long-distance. *Science* 316:1030-1033.

- Cregan, PB y Yaklich, RW. 1986. Dry matter and nitrogen accumulation and partitioning in selected soybean genotypes of different derivation. *Theoretical and Applied Genetics* 72:782-786.
- Cregan, PB; Jarvik, T; Bush, AL; Shoemaker, RC; Lark, KG; Kahler, AL; Kaya, N; van Toai, TT; Lohnes, DG; Chung, J, *et al.* 1999. An integrated genetic linkage map of the soybean genome. *Crop Science* 39:1464-1490.
- Cure, JD; Patterson, RP; Raper, CD y Jackson, WA. 1982. Assimilate distribution in soybeans as affected by photoperiod during seed development. *Crop Science* 22:1245-1250.
- Curtis, DF; Tanner, JW; Luzzi, BM y Hume, DJ. 2000. Agronomic and phenological differences of soybean isolines differing in maturity and growth habit. *Crop Science* 40:1624-1629.
- Charles-Edwards, DA; Doley, D y Rimmington, GM. 1986. Modeling plant growth and development Academic Press, North Ryde.
- Cheng, L; Wang, Y; Zhang, C; Wu, C; Xu, J; Zhu, H; Leng, J; Bai, Y; Guan, R; Hou, W, *et al.* 2011. Genetic analysis and QTL detection of reproductive period and post-flowering photoperiod responses in soybean. *Theoretical and Applied Genetics* 123:421-429.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. 1986. Manual de técnicas en histología vegetal. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- Di Paola, MM. 2005. Expansión de la frontera agropecuaria. Apuntes Agroeconómicos de la FAUBA 3.
- Di Rienzo, JA; Casanoves, F; Balzarini, MG; Gonzalez, L; Tablada, M y Robledo, CW. 2015. InfoStat. Release Versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Dunphy, EJ; Hanway, JJ y Green, DE. 1979. Soybean yields in relation to days between specific developmental stages. *Agronomy Journal* 171:917-920.
- Duthion, C y Pigeaire, A. 1991. Seed lengths corresponding to the final stage in seed abortion of three grain legumes. *Crop Science* 31:1579-1583.
- Dybing, CD. 1994. Soybean flower production as related to plant growth and seed yield. *Crop Science* 34:489-497.
- Dybing, CD; Ghiasi, H y Paech, C. 1986. Biochemical characterization of soybean ovary growth from anthesis to abscission of aborting ovaries. *Plant Physiology* 81:1069-1074.
- Egli, DB. 1990. Seed water relations and the regulation of the duration of seed growth in soybean. *Journal of Experimental Botany* 41:243-248.
- Egli, DB. 1993. Cultivar maturity and potential yield of soybean. *Field Crops Research* 32:147-158.
- Egli, DB. 1997. Cultivar maturity and response of soybean to shade stress during seed filling. *Field Crops Research* 52:1-8.
- Egli, DB. 1998. Seed biology and the yield of grain crops CAB International, Madison.
- Egli, DB. 2004. Seed-fill duration and yield of grain crops. *Advances in Agronomy* 83:243-279.
- Egli, DB. 2005. Flowering, pod set and reproductive success in soya bean. *Journal of Agronomy and Crop Science* 191:283-291.
- Egli, DB. 2010a. Soybean reproductive sink size and short-term reductions in photosynthesis during flowering and pod set. *Crop Science* 50:1971-1977.
- Egli, DB. 2010b. SOYPOD: A model of fruit set in soybean. *Agronomy Journal* 102:39-47.

- Egli, DB. 2013. The relationship between the number of nodes and pods in soybean communities. *Crop Science* 53:1668-1676.
- Egli, DB. 2015. Pod set in soybean: Investigations with SOYPODP, a whole plant model. *Agronomy Journal* 107:349-360.
- Egli, DB y Leggett, JE. 1976. Rate of dry matter accumulation in soybean seeds with varying source-sink ratios. *Agronomy Journal* 68:371-374.
- Egli, DB y Yu, ZW. 1991. Crop growth rate and seeds per unit area in soybean. *Crop Science* 31:439-442.
- Egli, DB y Bruening, WP. 2000. Potential of early-maturing soybean cultivars in late plantings. *Agronomy Journal* 92:532-537.
- Egli, DB y Bruening, WP. 2002a. Synchronous flowering and fruit set at phloem-isolated nodes in soybean. *Crop Science* 42:1535-1540.
- Egli, DB y Bruening, WP. 2002b. Flowering and fruit set dynamics at phloem-isolated nodes in soybean. *Field Crops Research* 79:9-19.
- Egli, DB y Bruening, WP. 2006a. Temporal profiles of pod production and pod set in soybean. *European Journal of Agronomy* 24:11-18.
- Egli, DB y Bruening, WP. 2006b. Fruit development and reproductive survival in soybean: Position and age effects. *Field Crops Research* 98:195-202.
- Egli, DB; Fraser, J; Leggett, JE y Poneleit, CG. 1981. Control of seed growth in soya beans. *Annals of Botany* 48:171-176.
- Egli, DB; Guffy, RD; Meckel, LW y Leggett, JE. 1985. The effect of source-sink alterations on soybean seed growth. *Annals of Botany* 55:395-402.
- Egli, DB; Ramseur, EL; Zhen-Wen, Y y Sullivan, CH. 1989. Source-sink alterations affect the number of cells in soybean coyledons. *Crop Science* 29:732-735.
- Ellis, RH; Asumadu, H; Qi, A y Summerfield, RJ. 2000. Effects of photoperiod and maturity genes on plant growth, partitioning, radiation use efficiency, and yield in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] 'Clark'. *Annals of Botany* 85:335-343.
- Fehr, WR y Caviness, CE. 1977. Stages of soybean development No. 80. Iowa State University, Ames, Iowa.
- Fellows, RJ; Egli, DB y Leggett, JE. 1979. Rapid changes in translocation patterns in soybeans following source-sink alterations. *Plant Physiology* 64:652-655.
- Fischer, RA. 1985. Number of kernels in wheat crops and the influence of solar radiation and temperature. *The Journal of Agricultural Science* 105:447-461.
- Fleming, JE; Ellis, RH; John, R; Summerfield, RJ y Roberts, EH. 1997. Developmental implications of photoperiod sensitivity in soybean (*Glycine max* [L.] Merr.). *International Journal of Plant Sciences* 158:142-151.
- Flohr, M-L; Williams, JH y Lenz, F. 1990. The effect of photoperiod on the reproductive development of a photoperiod sensitive groundnut (*Arachis hypogaea* L.) Cv. NC Ac 17090. *Experimental Agriculture* 26:397-406.
- Foley, TC; Orf, JH y Lambert, JW. 1986. Performance of related determinate and indeterminate soybean lines. *Crop Science* 26:5-8.
- Foulkes, MJ; Reynolds, M y Sylvester-Bradley, R. 2009. Genetic improvement of grain crops: Yield potential, p. 355-385. *En: Sadras, VO y Calderini, DF, (eds.) Crop physiology: Applications for genetic improvement and agronomy. Academic Press, San Diego.*
- Fraser, J; Egli, DB y Leggett, JE. 1982. Pod and seed development in soybean cultivars with differences in seed size. *Agronomy Journal* 74:81-85.
- Fukui, J; Gotoh, T y Matsumoto, S. 1962. Varietal differences of the effects of day-length and temperature on the development of floral organs in the soy-bean. II.

- Comparison of development of floral organs. Japanese Journal of Breeding 12:7-12.
- Gai, JY; Palmer, RG y Fehr, WR. 1984. Bloom and pod set in determinate and indeterminate soybeans grown in China. Agronomy Journal 76:979-984.
- Garner, WW y Allard, HA. 1920. Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. Journal of Agricultural Research 18:553-606.
- Gillaspy, G; Ben-David, H y Gruissem, W. 1993. Fruits: a developmental perspective. The Plant Cell 5:1439-1451.
- González, FG; Slafer, GA y Miralles, DJ. 2005a. Floret development and survival in wheat plants exposed to contrasting photoperiod and radiation environments during stem elongation. Functional Plant Biology 32:189-197.
- González, FG; Slafer, GA y Miralles, DJ. 2005b. Photoperiod during stem elongation in wheat: is its impact on fertile floret and grain number determination similar to that of radiation? Functional Plant Biology 32:181-188.
- Greenberg, MR. 2004. Pocket guide to crop development: Illustrated Growth Timelines for Corn, Sorghum, Soybean, and Wheat. University of Illinois Extension, Illinois.
- Grimm, SS; Jones, JW; Boote, KJ y Hesketh, JD. 1993. Parameter estimation for predicting flowering date of soybean cultivars. Crop Science 33:137-144.
- Guamet, JJ y Nakayama, F. 1984a. The effects of long days upon reproductive growth in soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.) cv. Williams. Japanese Journal of Crop Science 53:35-40.
- Guamet, JJ y Nakayama, F. 1984b. Varietal responses of soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.) to long days during reproductive growth. Japanese Journal of Crop Science 53:299-306.
- Hadley, P; Roberts, EH y Summerfield, RJ. 1984. Effects of temperature and photoperiod on flowering in soya bean (*Glycine max* (L.) Merrill): a quantitative model. Annals of Botany 53:669-681.
- Han, T y Wang, J. 1995. Studies on the post-flowering photoperiodic responses in soybean. Acta Botanica Sinica 37:863-869.
- Han, T; Gai, J; Wang, J y Zhou, D. 1998. Discovery of flowering reversion in soybean plants. Acta Agronomica Sinica 24:168-171.
- Han, T; Wu, C; Tong, Z; Mentreddy, RS; Tan, K y Gai, JY. 2006. Postflowering photoperiod regulates vegetative growth and reproductive development of soybean. Environmental and Experimental Botany 55:120-129.
- Hansen, WR y Shibles, R. 1978. Seasonal log of the flowering and podding activity of field-grown soybeans. Agronomy Journal 70:47-50.
- Hanson, WD. 1985. Association of seed yield with partitioned lengths of the reproductive period in soybean genotypes. Crop Science 25:525-529.
- Hanson, WD. 1992. Phenotypic recurrent selection for modified reproductive period in soybean. Crop Science 32:968-972.
- Hartwig, EE y Kiihl, RAS. 1979. Identification and utilization of a delayed flowering character in soybeans for short-day conditions. Field Crops Research 2:145-151.
- Heindl, JC y Brun, WA. 1983. Light and shade effects on abscission and ¹⁴C-photoassimilate partitioning among reproductive structures in soybean. Plant Physiology 73:434-439.
- Heitholt, JJ; Egli, DB y Leggett, JE. 1986a. Characteristics of reproductive abortion in soybean. Crop Science 26:589-595.

- Heitholt, JJ; Egli, DB; Leggett, JE y MacKown, CT. 1986b. Role of assimilate and carbon-14 photosynthate partitioning in soybean reproductive abortion. *Crop Science* 26:999-1004.
- Huff, A y Dybing, CD. 1980. Factors affecting shedding of flowers in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Journal of Experimental Botany* 31:751-762.
- Huq, E; Tepperman, J y Quail, P. 2000. GIGANTEA is a nuclear protein involved in phytochrome signaling in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97:9789-9794.
- Jiang, H y Egli, DB. 1993. Shade induced changes in flower and pod number and flower and fruit abscission in soybean. *Agronomy Journal* 85:221-225.
- Jiang, H y Egli, DB. 1995. Soybean seed number and crop growth rate during flowering. *Agronomy Journal* 87:264-267.
- Jones, JW; Boote, KJ; Hoogenboom, SS; Jagtap, SS y Wilkerson, GG. 1989. SOYGRO V5.42 Soybean crop growth simulation model user's guide. Florida Agricultural Experiment Station Journal No. 8304. University of Florida, Gainesville, Florida.
- Kahlon, CS; Board, JE y Kang, MS. 2011. An analysis of yield component changes for new vs. old soybean cultivars. *Agronomy Journal* 103:13-22.
- Kantolic, AG. 2006. Duración del período crítico y definición del número de granos en soja: cambios asociados a la respuesta fotoperiódica en postfloración de genotipos indeterminados de los grupos cuatro y cinco. Tesis de Doctorado, Universidad de Buenos Aires.
- Kantolic, AG y Slafer, GA. 2001. Photoperiod sensitivity after flowering and seed number determination in indeterminate soybean cultivars. *Field Crops Research* 72:109-118.
- Kantolic, AG y Slafer, GA. 2004. Temporal and positional effects of photoperiod and radiation on pod number and seed growth in indeterminate soybeans. VII World Soybean Research Conference, IV International Soybean Processing and Utilization Conference, III Brazilian Soybean Congress. 29/02/2004-05/03/2004. Foz do Iguaçu, Brasil.
- Kantolic, AG y Slafer, GA. 2005. Reproductive development and yield components in indeterminate soybean as affected by post-flowering photoperiod. *Field Crops Research* 93:212-222.
- Kantolic, AG y Slafer, GA. 2007. Development and seed number in indeterminate soybean as affected by timing and duration of exposure to long photoperiod after flowering. *Annals of Botany* 99:925-933.
- Kantolic, AG; Giménez, PI y de la Fuente, EB. 2003. Ciclo ontogénico, dinámica del desarrollo y generación del rendimiento y la calidad en soja, p. 165-201. *En: Pascale, AJ, (ed.) Producción de granos. Bases funcionales para su manejo.* Editorial Facultad de Agronomía, Buenos Aires.
- Kantolic, AG; Peralta, GE y Slafer, GA. 2013. Seed number responses to extended photoperiod and shading during reproductive stages in indeterminate soybean. *European Journal of Agronomy* 51:91-100.
- Kantolic, AG; Mercau, JL; Slafer, GA y Sadras, VO. 2007. Simulated yield advantages of extending post-flowering development at the expense of a shorter pre-flowering development in soybean. *Field Crops Research* 101:321-330.
- Kim, MY; Lee, S; Van, K; Kim, T-H; Jeong, S-C; Choi, I-Y; Kim, D-S; Lee, Y-S; Park, D; Ma, J, *et al.* 2010. Whole-genome sequencing and intensive analysis of the undomesticated soybean (*Glycine soja* Sieb. and Zucc.) genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107:22032-22037.

- Kleffmann Group. 2013. Agricultural Market Information System (AMIS), Soybean Seed.
- Kong, F; Liu, B; Xia, Z; Sato, S; Kim, BM; Watanabe, S; Yamada, T; Tabata, S; Kanazawa, A; Harada, K, *et al.* 2010. Two coordinately regulated homologs of FLOWERING LOCUS T are involved in the control of photoperiodic flowering in soybean. *Plant Physiology* 154:1220-1231.
- Kong, F; Nan, H; Cao, D; Li, Y; Wu, F; Wang, J; Lu, S; Yuan, X; Cober, ER; Abe, J, *et al.* 2014. A new dominant gene *E9* conditions early flowering and maturity in soybean. *Crop Science* 54:2529-2535.
- Kumudini, SV; Hume, DJ y Chu, G. 2001. Genetic improvement in short season soybeans: I. Dry matter accumulation, partitioning, and leaf area duration. *Crop Science* 41:391-398.
- Kumudini, SV; Pallikonda, PK y Steele, C. 2007. Photoperiod and *E*-genes influence the duration of the reproductive phase in soybean. *Crop Science* 47:1510-1517.
- Lemontey, C; Mousset-Declas, C; Munier-Jolain, N y Boutin, JP. 2000. Maternal genotype influences pea seed size by controlling both mitotic activity during early embryogenesis and final endoreduplication level/cotyledon cell size in mature seed. *Journal of Experimental Botany* 51:167-175.
- Liu, B; Kanazawa, A; Matsumura, H; Takahashi, R; Harada, K y Abe, J. 2008. Genetic redundancy in soybean photoresponses associated with duplication of the phytochrome A gene. *Genetics* 180:995-1007.
- Liu, F; Jensen, CR y Andersen, MN. 2004. Pod set related to photosynthetic rate and endogenous ABA in soybeans subjected to different water regimes and exogenous ABA and BA at early reproductive stages. *Annals of Botany* 94:405-411.
- Loomis, RS y Amthor, JS. 1999. Yield potential, plant assimilatory capacity, and metabolic efficiencies. *Crop Science* 39:1584-1596.
- Matsumura, H; Liu, B; Abe, J y Takahashi, R. 2008. AFLP mapping of soybean maturity gene *E4*. *Journal of Heredity* 99:193-197.
- McBlain, BA y Bernard, RL. 1987. A new gene affecting the time of flowering and maturity in soybeans. *The Journal of Heredity* 78:160-162.
- McBlain, BA; Hesketh, JD y Bernard, RL. 1987. Genetic effects on reproductive phenology in soybean isolines differing in maturity genes. *Canadian Journal of Plant Science* 67:105-116.
- Messina, CD. 2003. Gene-based systems approach to simulate soybean growth and development and application to ideotype design in target environments. Tesis de Doctorado, University of Florida, Florida.
- Messina, CD; Jones, JW; Boote, KJ y Vallejos, CE. 2006. A gene-based model to simulate soybean development and yield responses to environment. *Crop Science* 46:456-466.
- Miralles, DJ y Slafer, GA. 2007. Sink limitations to yield in wheat: how could it be reduced? *Journal of Agricultural Science* 145:1-11.
- Molnar, SJ; Rai, S; Charette, M y Cober, ER. 2003. Simple sequence repeat (SSR) markers linked to *E1*, *E3*, *E4*, and *E7* maturity genes in soybean. *Genome* 46:1024-1036.
- Monzón, JP; Merlos, FA; Mercáu, J; Grassini, P; Andrade, F; Taboada, MA; Hall, A; Cassman, KG y Jobbágy, E. 2013. Magnitude and variability of maize, wheat, and soybean yield gaps in Argentina. ASA, CSSA & SSSA International Annual Meetings. 3-6 Nov. Tampa, Florida.

- Morandi, EN; Casano, LM y Reggiardo, LM. 1988. Post-flowering photoperiodic effect on reproductive efficiency and seed growth in soybean. *Field Crops Research* 18:227-241.
- Morandi, EN; Schussler, JR y Brenner, ML. 1990. Photoperiodically induced changes in seed growth rate of soybean as related to endogenous concentrations of ABA and sucrose in seed tissues. *Annals of Botany* 66:605-611.
- Munier-Jolain, NG y Ney, B. 1998. Seed growth rate in grain legumes: II. Seed growth rate depends on cotyledon cell number. *Journal of Experimental Botany* 49:1971-1976.
- Myers, RL; Brun, WA y Brenner, ML. 1987. Effect of raceme-localized supplemental light on soybean reproductive abscission. *Crop science* 27:273-277.
- Nagata, T. 1960. Morphological, physiological, and genetic aspects of the summer vs. autumn soybean habit, the plant habit, and the interrelation between them in soybeans. *Sci. Rep. Hyogo Univ. Agric.* 4:71-95.
- Nagata, T. 1967. Studies on the significance of indeterminate growth habit in breeding soybean. III. Varietal difference in the fruiting process attributable to the habit. a. Maturity and growth of pods and seeds. *Japanese Journal of Breeding* 17:25-32.
- Nagel, L; Brewster, R; Riedell, WE y Reese, RN. 2001. Cytokinin regulation of flower and pod set in soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.). *Annals of Botany* 88:27-31.
- Navarro, C; Abelenda, JA; Cruz-Oró, E; Cuéllar, CA; Tamaki, S; Silva, J; Shimamoto, K y Prat, S. 2011. Control of flowering and storage organ formation in potato by FLOWERING LOCUS T. *Nature* 478:119-123.
- Nico, M. 2015. Mecanismos asociados al establecimiento de granos en soja frente a cambios en el fotoperíodo en post-floración como herramientas para desarrollar nuevas estrategias de evasión o mitigación de estreses abióticos (y abióticos). Taller de Estreses Abióticos en los Cultivos de Maíz y Soja. EPG-FAUBA. Buenos Aires, Argentina.
- Nico, M; Kantolic, AG y Miralles, DJ. 2011. Interacciones entre vainas de soja (*Glycine max*) de distinta jerarquía que crecen en un mismo nudo, bajo ambientes de radiación y fotoperíodo contrastantes. V Congreso de la Soja del Mercosur. 14-16 Sep. Rosario.
- Nico, M; Miralles, DJ y Kantolic, AG. 2015. Post-flowering photoperiod and radiation interaction in soybean yield determination: Direct and indirect photoperiodic effects. *Field Crops Research* 176:45-55.
- Nico, M; Mantese, AI; Miralles, DJ y Kantolic, AG. 2016. Soybean fruit development and set at the node level under combined photoperiod and radiation conditions. *Journal of Experimental Botany* 67:365-377.
- Nooden, LD; Singh, S y Letham, DS. 1990. Correlation of xylem sap cytokinin levels with monocarpic senescence in soybean. *Plant Physiology* 93:33-39.
- Noodén, LD y Obermeyer, WR. 1981. Changes in abscisic acid translocation during pod development and senescence in soybeans. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* 176:859-868.
- Noodén, LD y Letham, DS. 1993. Cytokinin metabolism and signalling in the soybean plant. *Australian Journal of Plant Physiology* 20:639-653.
- Pallikonda, PK. 2006. Impact of *E*-genes on soybean (*Glycine max* L. [Merr]) development, senescence and yield. Tesis de Doctorado, University of Kentucky, Lexington, Kentucky.
- Paruelo, JM y Guerschman, JP. 2005. Expansión agrícola y cambios en el uso del suelo. *Ciencia Hoy* 15:14-23.

- Pinheiro, J; Bates, D; DebRoy, S; Sarkar, D y R Development Core Team. 2012. nlme: linear and nonlinear mixed effects models. Release R package version 3.1-104.
- Piper, EL; Boote, KJ; Jones, JW y Grimm, SS. 1996. Comparison of two phenology models for predicting flowering and maturity date of soybean. *Crop Science* 36:1606-1614.
- Quijano, A y Morandi, EN. 2011. Post-flowering leaflet removals increase pod initiation in soybean canopies. *Field Crops Research* 120:151-160.
- R Development Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. Release Version 3.1.3. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Rahman, MS y Wilson, H. 1977. Determination of spikelet number in wheat: I. Effect of varying photoperiod on ear development. *Australian Journal of Agricultural Research* 28:565-574.
- Raper, CD y Thomas, JF. 1978. Photoperiodic alteration of dry matter partitioning and seed yield in soybeans. *Crop Science* 18:654-656.
- Ray, JD; Hinson, K; Mankono, JEB y Malo, MF. 1995. Genetic control of a long-juvenile trait in soybean. *Crop Science* 35:1001-1006.
- Reynolds, M; Foulkes, MJ; Slafer, GA; Berry, P; Parry, MAJ; Snape, JW y Angus, WJ. 2009. Raising yield potential in wheat. *Journal of Experimental Botany* 60:1899-1918.
- Saitoh, K; Isobe, S y Kuroda, T. 1998a. Differentiation and developmental stages of floral organs as influenced by nodal position on the stem and raceme order in a determinate type of soybean. *Japanese Journal of Crop Science* 67:85-90.
- Saitoh, K; Isobe, S y Kuroda, T. 1998b. Pod elongation and seed growth as influenced by nodal position on stem and raceme order in a determinate type of soybean cultivar. *Japanese Journal of Crop Science* 67:523-528.
- Saitoh, K; Isobe, S y Kuroda, T. 1999a. Intraraceme variation in the numbers of flowers and pod set in field-grown soybean. *Japanese Journal of Crop Science* 68:396-400.
- Saitoh, K; Wakui, N; Mahmood, T y Kuroda, T. 1999b. Differentiation and development of floral organs at each node and raceme order in an indeterminate type of soybean. *Plant Production Science* 2:47-50.
- Sawa, M y Kay, S. 2011. GIGANTEA directly activates *Flowering Locus T* in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108:11698-11703.
- Schmutz, J; Cannon, SB; Schlueter, J; Ma, J; Mitros, T; Nelson, W; Hyten, DL; Song, Q; Thelen, JJ; Cheng, J, *et al.* 2010. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature* 463:178-183.
- Schou, JB; Jeffers, DL y Streeter, JG. 1978. Effects of reflectors, black boards, or shades applied at different stages of plant development on yield of soybeans. *Crop Science* 18:29-34.
- Shanmugasundaram, S y Tsou, SCS. 1978. Photoperiod and critical duration for flower induction in soybean. *Crop Science* 78:598-601.
- SIIA. 2015. Sistema Integrado de Información Agropecuaria [Online]. *disponible en: <http://www.sii.gov.ar/series>* (Fecha de acceso: 27/5/2015).
- Slafer, GA; Calderini, DF y Miralles, DJ. 1996. Yield components and compensation in wheat: opportunities for further increasing yield potential, p. 101-133. *En: Reynolds, MP et al., (eds.) Increasing yield potential in wheat: breaking the barriers.* CIMMYT, Mexico.

- Slafer, GA; Kantolic, AG; Appendino, ML; Miralles, DJ y Savin, R. 2009. Crop development: Genetic control, environmental modulation and relevance for genetic improvement of crop yield, p. 277-308. *En: Sadras, VO y Calderini, DF, (eds.) Crop physiology: Applications for genetic improvement and agronomy.* Academic Press, San Diego.
- Spaeth, SC y Sinclair, TR. 1984. Soybean seed growth. I. Timing of growth of individual seeds. *Agronomy Journal* 76:123-127.
- Specht, JE; Hume, DJ y Kumudini, SV. 1999. Soybean yield potential: A genetic and physiological perspective. *Crop Science* 39:1560-1570.
- Stewart, DW; Cober, ER y Bernard, RL. 2003. Modeling genetic effects on the photothermal response of soybean phenological development. *Agronomy Journal* 95:65-70.
- Summerfield, RJ; Asumadu, H; Ellis, RH y Qi, A. 1998. Characterization of the photoperiodic response of post-flowering development in maturity isolines of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] 'Clark'. *Annals of Botany* 82:765-771.
- Swank, JC; Egli, DB y Pfeiffer, TW. 1987. Seed growth characteristics of soybean genotypes differing in duration of seed fill. *Crop Science* 27:85-89.
- Tasma, IM y Shoemaker, RC. 2003. Mapping flowering time gene homologous in soybean and their association with maturity *E* loci. *Crop Science* 43:319-328.
- Thakare, D; Kumudini, S y Dinkins, R. 2011. The alleles at the *E1* locus impact the expression pattern of two soybean *FT*-like genes shown to induce flowering in *Arabidopsis*. *Planta* 234:933-943.
- Thomas, JF y Raper, CD. 1976. Photoperiodic control of seed filling for soybeans. *Crop Science* 16:667-672.
- Thomas, JF y Raper, CD. 1983. Photoperiod and temperature regulation of floral initiation and anthesis in soya bean. *Annals of Botany* 51:481-489.
- Thomas, JF y Raper, CD. 1984. Photoperiod regulation of floral initiation for soybean plants at different ages. *Crop Science* 24:611-614.
- Thomas, JF y Kanchanapoom, ML. 1991. Shoot meristem activity during floral transition in *Glycine max* (L.) Merr. *Botanical Gazette* 152:139-147.
- Thorne, JH y Koller, RH. 1974. Influence of assimilate demand on photosynthesis, diffusive resistances, translocation, and carbohydrate levels of soybean leaves. *Plant Physiology* 54:201-207.
- Torigoe, Y; Shinji, H y Kurihara, H. 1982. Studies on developmental morphology and yield determining process of soybeans. II. Developmental regularity of flower clusters and flowering habit from a viewpoint of gross morphology. *Japanese Journal of Crop Science* 51:89-96.
- Upadhyay, AP; Summerfield, RJ; Ellis, RH; Roberts, EH y Qi, A. 1994. Variation in the duration of the photoperiod-sensitive and photoperiod insensitive phases of development to flowering among eight maturity isolines of soya bean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Annals of Botany* 74:97-101.
- van Schaik, PH y Probst, AH. 1958. Effects of some environmental factors on flower production and reproductive efficiency in soybeans. *Agronomy Journal* 50:192-197.
- Vega, CRC; Andrade, FH y Sadras, VO. 2001a. Reproductive partitioning and seed set efficiency in soybean, sunflower and maize. *Field Crops Research* 72:163-175.
- Vega, CRC; Andrade, FH; Sadras, VO; Uhart, SA y Valentinuz, OR. 2001b. Seed number as a function of growth. A comparative study in soybean, sunflower, and maize. *Crop Science* 41:748-754.

- Viglizzo, EF; Frank, FC; Carreño, LV; Jobbagy, EG; Pereyra, H; Clatt, J; Pincén, D y Ricard, MF. 2011. Ecological and environmental footprint of 50 years of agricultural expansion in Argentina. *Global Change Biology* 17:959-973.
- Wallace, DH. 1985. Physiological genetics of plant maturity, adaptation, and yield, p. 21-167. *En: Janick, J, (ed.) Plant Breeding Reviews* 3. The AVI Publishing Company, Connecticut.
- Washburn, CF y Thomas, JF. 2000. Reversion of flowering in *Glycine max* (Fabaceae). *American Journal of Botany* 87:1425-1438.
- Watanabe, S; Harada, K y Abe, J. 2012. Genetic and molecular bases of photoperiod responses of flowering in soybean. *Breeding Science* 61:531-543.
- Watanabe, S; Tajuddin, T; Yamanaka, N; Hayashi, M y Harada, K. 2004. Analysis of QTLs for reproductive development and seed quality traits in soybean using recombinant inbred lines. *Breeding Science* 54:399-407.
- Watanabe, S; Xia, Z; Hideshima, R; Tsubokura, Y; Sato, S; Yamanaka, N; Takahashi, R; Anai, T; Tabata, S; Kitamura, K, *et al.* 2011. A map-based cloning strategy employing a residual heterozygous line reveals that the GIGANTEA gene is involved in soybean maturity and flowering. *Genetics* 188:395-407.
- Watanabe, S; Hideshima, R; Xia, Z; Tsubokura, Y; Shusei Sato; Nakamoto, Y; Yamanaka, N; Takahashi, R; Ishimoto, M; Anai, T, *et al.* 2009. Map-based cloning of the gene associated with the soybean maturity locus *E3*. *Genetics* 182:1251-1262.
- Weller, J y Ortega, R. 2015. Genetic control of flowering time in legumes. *Frontiers in Plant Science* 6:207.
- Westgate, ME y Peterson, CM. 1993. Flower and pod development in water-deficient soybeans (*Glycine max* L. Merr.). *Journal of Experimental Botany* 44:109-117.
- Whigham, DK y Minor, HC. 1978. Agronomic characteristics and environmental stress, p. 77-118. *En: Norman, AG, (ed.) Soybean physiology, agronomy and utilization.* Academic Press, New York.
- Wiebold, WJ. 1990. Rescue of soybean flowers destined to abscise. *Agronomy Journal* 82:85-88.
- Wilcox, JA; Wiebold, WJ; Niblack, TL y Kephart, KD. 1995. Growth and development of soybean isolines that differ for maturity. *Agronomy Journal* 87:932-935.
- Xia, Z; Zhai, H; Liu, B; Kong, F; Yuan, X; Wu, H; Cober, ER y Harada, K. 2012a. Molecular identification of genes controlling flowering time, maturity, and photoperiod response in soybean. *Plant Systematics and Evolution* 298:1217-1227.
- Xia, Z; Watanabe, S; Yamada, T; Tsubokura, Y; Nakashima, H; Zhai, H; Anai, T; Satoe, S; Yamazaki, T; Lüa, S, *et al.* 2012b. Positional cloning and characterization reveal the molecular basis for soybean maturity locus *E1* that regulates photoperiodic flowering. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109:E2155-E2164.
- Xu, M; Xu, Z; Liu, B; Kong, F; Tsubokura, Y; Watanabe, S; Xia, Z; Harada, K; Kanazawa, A y Yamada, T. 2013. Genetic variation in four maturity genes affects photoperiod insensitivity and *PHYA*-regulated post-flowering responses of soybean. *BMC plant biology* 13:91.
- Yoshida, K; Nomura, F y Gotoh, K. 1983. Significance on intra-plant flowering date in soybean seed production. 2. Number of flowers, podding efficiency, nodal distribution of pods and yield components among different flowering dates. *Japanese Journal of Crop Science* 52:567-573.

- Zhang, L; Wang, R y Hesketh, JD. 2001. Effects of photoperiod on growth and development of soybean floral bud in different maturity. *Agronomy Journal* 93:944-948.
- Zhang, Q; Li, H; Li, R; Hu, R; Fan, C; Chen, F; Wang, Z; Liu, X; Fu, Y y Lin, C. 2008. Association of the circadian rhythmic expression of *GmCRY1a* with a latitudinal cline in photoperiodic flowering of soybean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105:21028-21033.
- Zhang, WK; Wang, YJ; Luo, GZ; Zhang, JS; He, CY; Wu, XL; Gai, JY y Chen, SY. 2004. QTL mapping of ten agronomic traits on the soybean (*Glycine max* L. Merr.) genetic map and their association with EST markers. *Theoretical and Applied Genetics* 108:1131-1139.
- Zheng, SH; Maeda, A y Fukuyama, M. 2003. Genotypic and environmental variation of lag period of pod growth in soybean. *Plant Production Science* 6:243-246.
- Zheng, SH; Maeda, A; Kashiwagi, Y; Nakamoto, A y Fukuyama, M. 2004. Simultaneous growth of pods and seeds set on different racemes in soybean. 4th International Crop Science Congress. Brisbane, Queensland, Australia.

ANEXO

Exp1

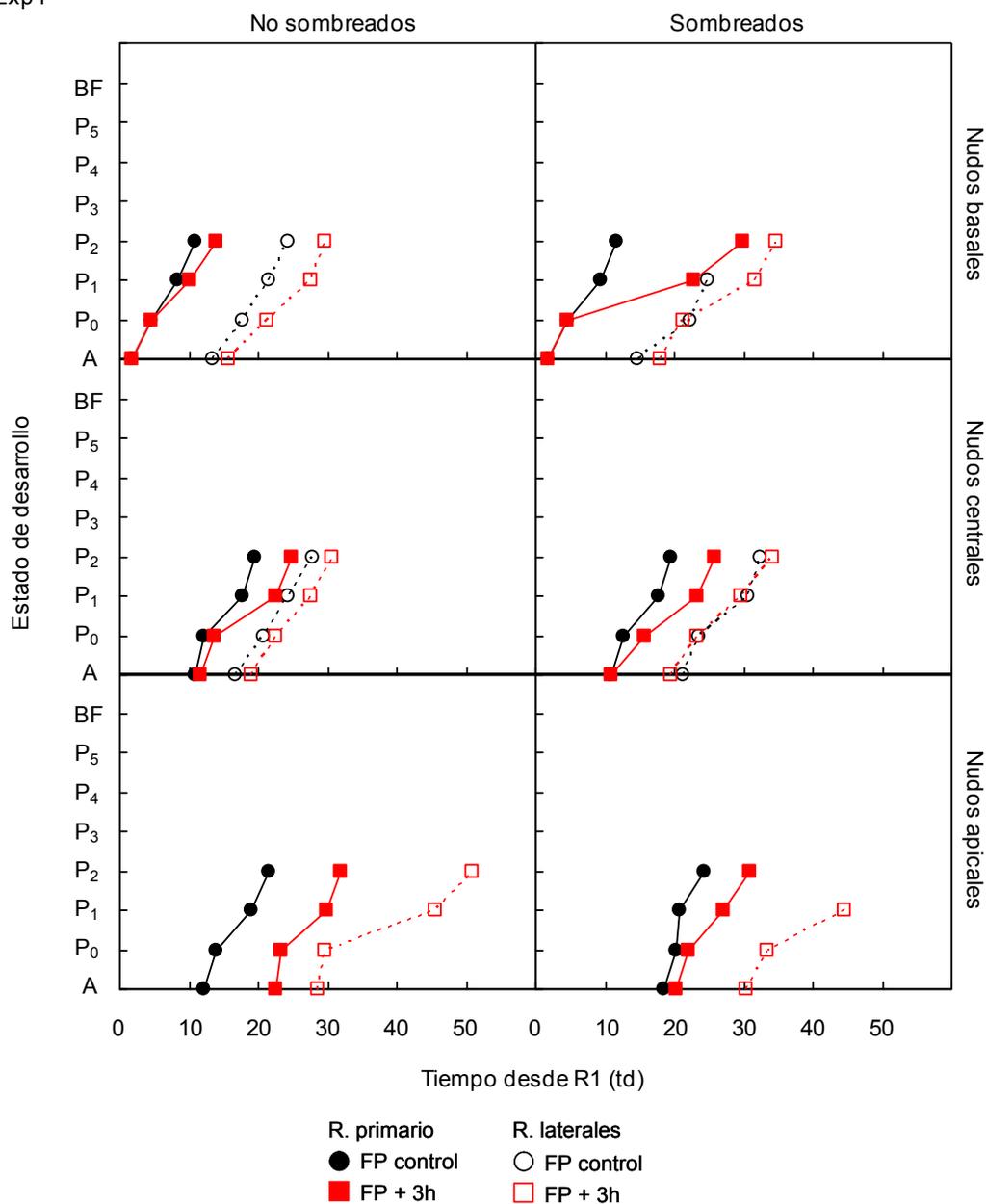


Figura A.1. Desarrollo de la primera vaina en función de los días termales desde floración (R1). En nudos basales (arriba), centrales (centro) y apicales (abajo) del tallo principal de plantas no sombreadas (izquierda) o sombreadas (derecha) del Exp1. Escala de desarrollo: flor abierta (A), vaina <1 cm (P₀), vaina de 1 a 2 cm (P₁) o vaina de 2 a 3 cm (P₂), vaina de 3 a 4 cm (P₃), vaina de 4 a 5 cm (P₄), vaina >5 cm (P₅) y vaina con granos >3 mm (BF).

Exp2

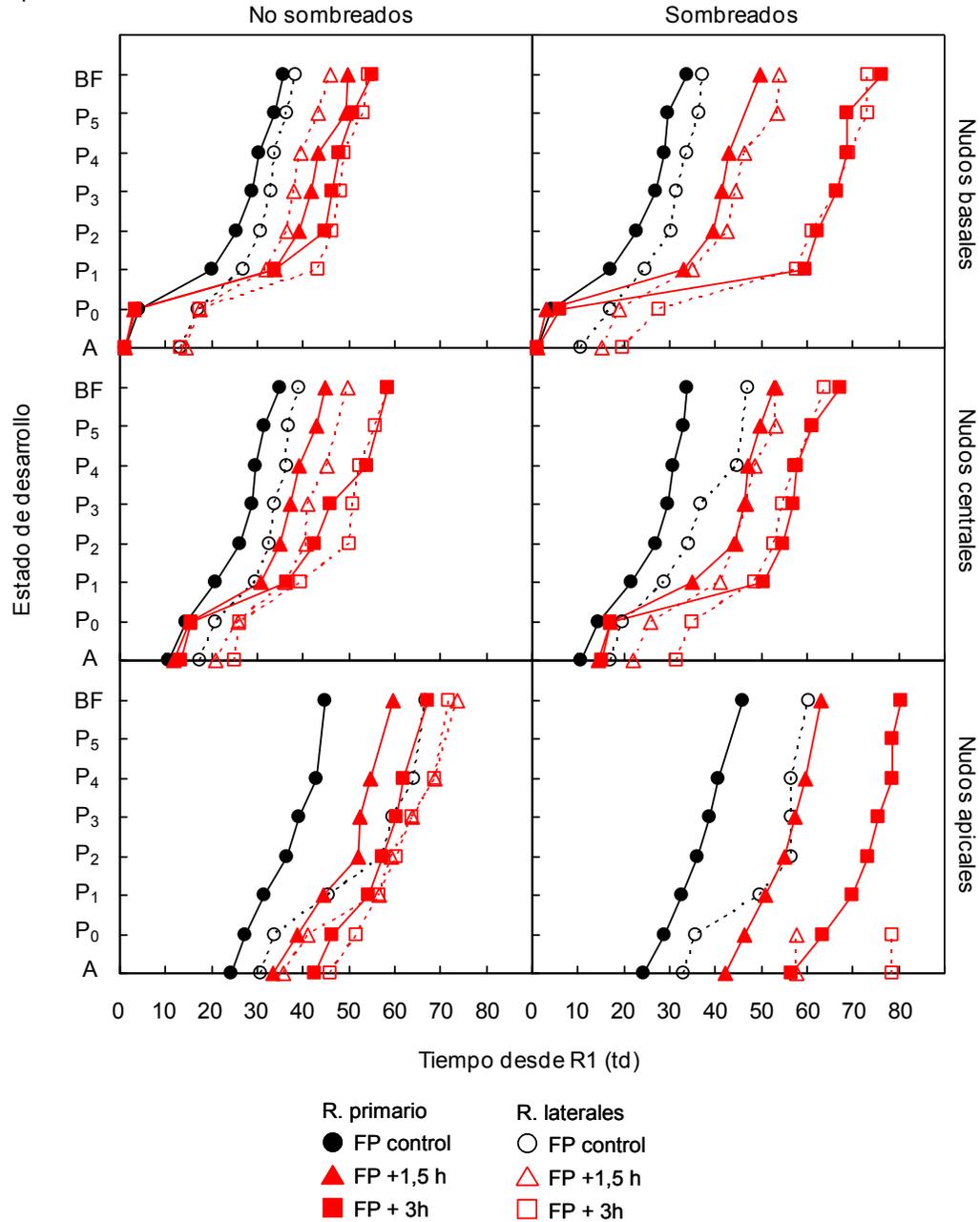
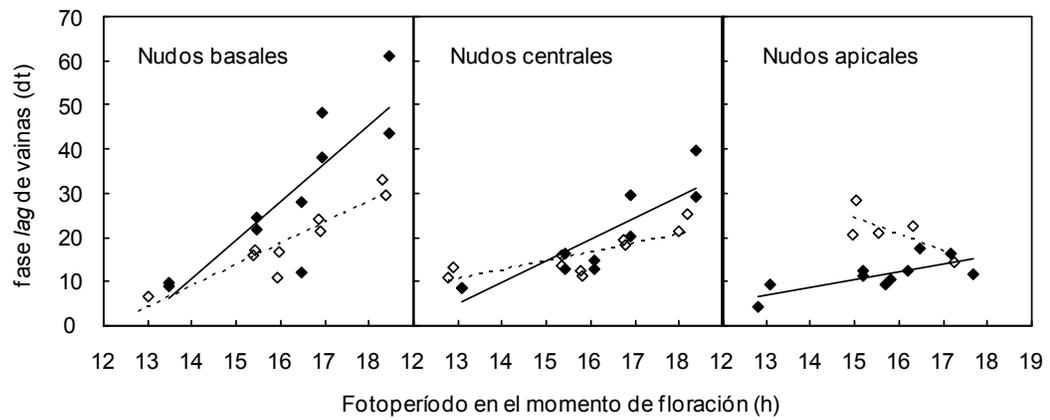


Figura A.1 (cont.). Desarrollo de la primera vaina en función de los días termales desde floración (R1) en nudos basales (arriba), centrales (centro) y apicales (abajo) del tallo principal de plantas no sombreadas (izquierda) o sombreadas (derecha) del Exp2. Escala de desarrollo: flor abierta (A), vaina <1 cm (P0), vaina de 1 a 2 cm (P1) o vaina de 2 a 3 cm (P2), vaina de 3 a 4 cm (P3), vaina de 4 a 5 cm (P4), vaina >5 cm (P5) y vaina con granos >3 mm (BF).



	Pendiente	Ordenada al origen	R ²	valor-p
Nudos basales				
Racimo primario	8,68	-110,6	0,73	0,0013
Racimos laterales	4,62	-56,27	0,85	0,0004
Nudos centrales				
Racimo primario	8,20	-57,61	0,74	0,0015
Racimos laterales	2,05	-16,24	0,64	0,0054
Nudos apicales				
Racimo primario	1,83	-17,06	0,56	0,0124
Racimos laterales	-4,03	84,98	0,62	0,1137

Figura A.2. Fase lag de una vaina en función del fotoperíodo en el momento de apertura de la flor que le dio origen. Para tres posiciones del tallo principal, en racimos primarios (símbolos llenos) y laterales (símbolos vacíos). En el cuadro se muestran los parámetros de las rectas ajustadas.

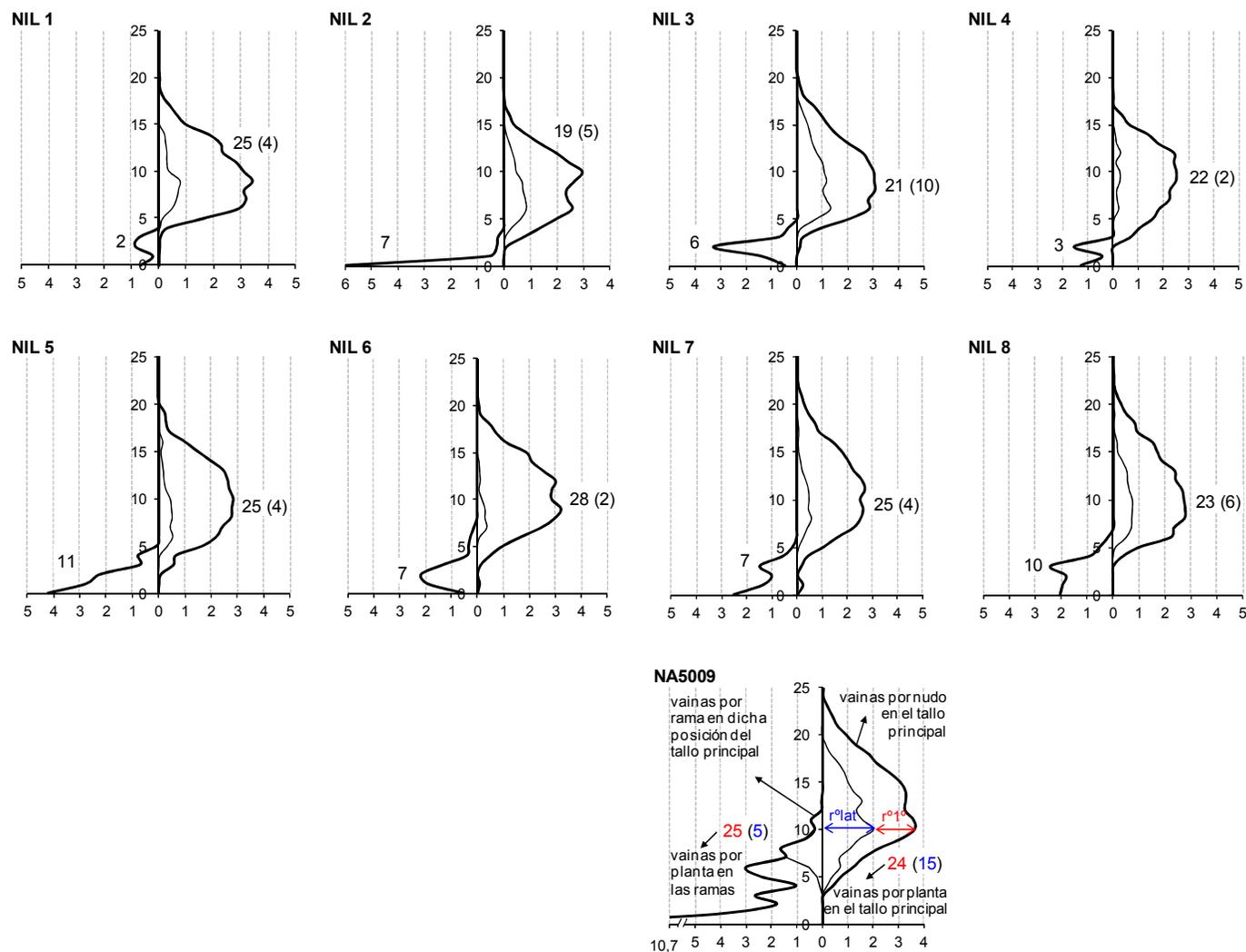


Figura A.3. Perfil de distribución espacial de vainas a madurez para cada genotipo bajo plena radiación en la primera fecha de siembra del Exp3. Número de vainas por nudo del tallo principal (a la derecha del eje) y número de vainas por rama inserta en cada nudo del tallo principal (a la izquierda del eje). La línea gruesa representa el número total de vainas y la línea fina el número de vainas en los racimos laterales, ver referencias en el gráfico del genotipo NA5009.

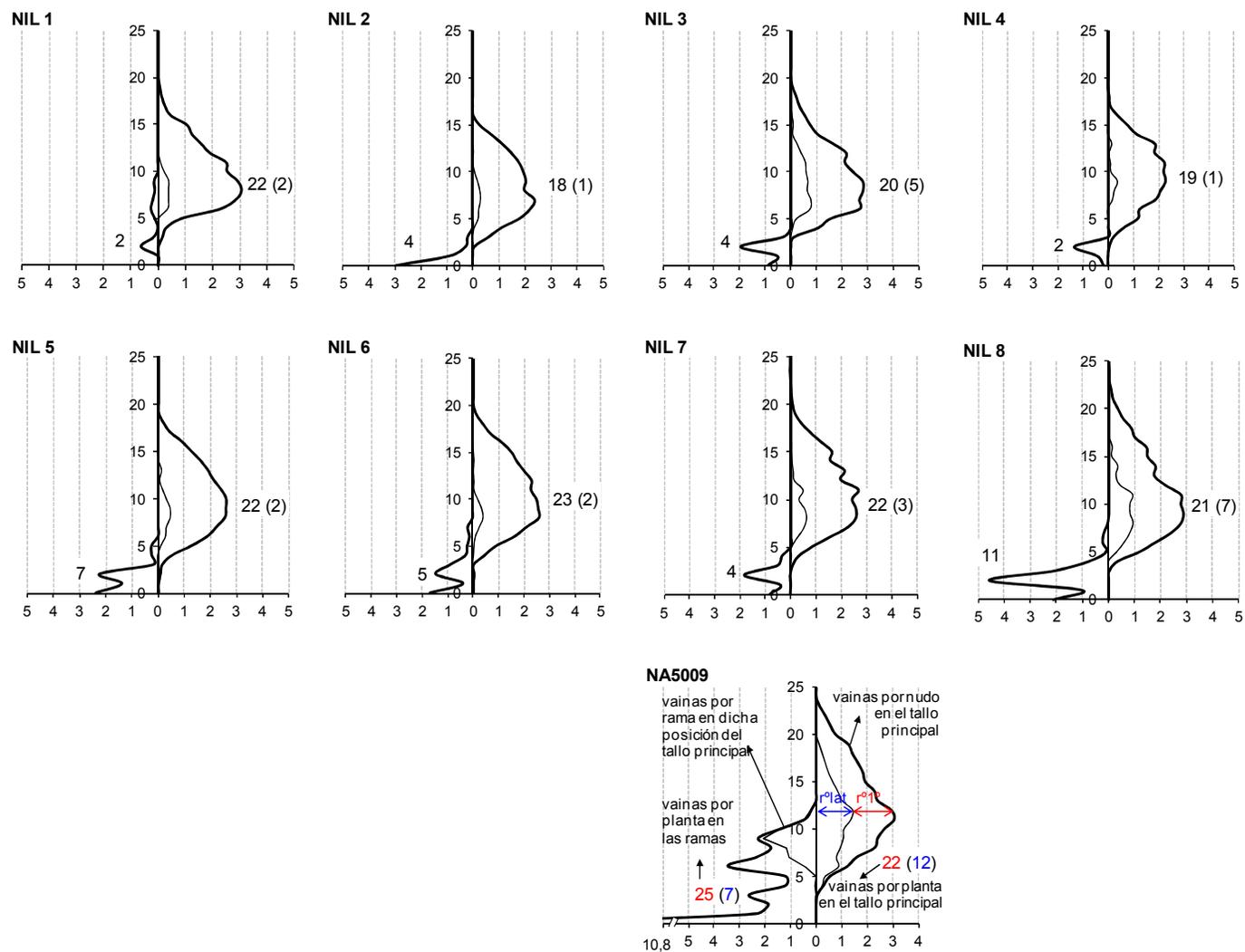


Figura A.3 (cont.). Perfil de distribución espacial de vainas a madurez para cada genotipo bajo sobra en la primera fecha de siembra del Exp3. Número de vainas por nudo del tallo principal (a la derecha del eje) y número de vainas por rama inserta en cada nudo del tallo principal (a la izquierda del eje). La línea gruesa representa el número total de vainas y la línea fina el número de vainas en los racimos laterales, ver referencias en el gráfico del genotipo NA5009.

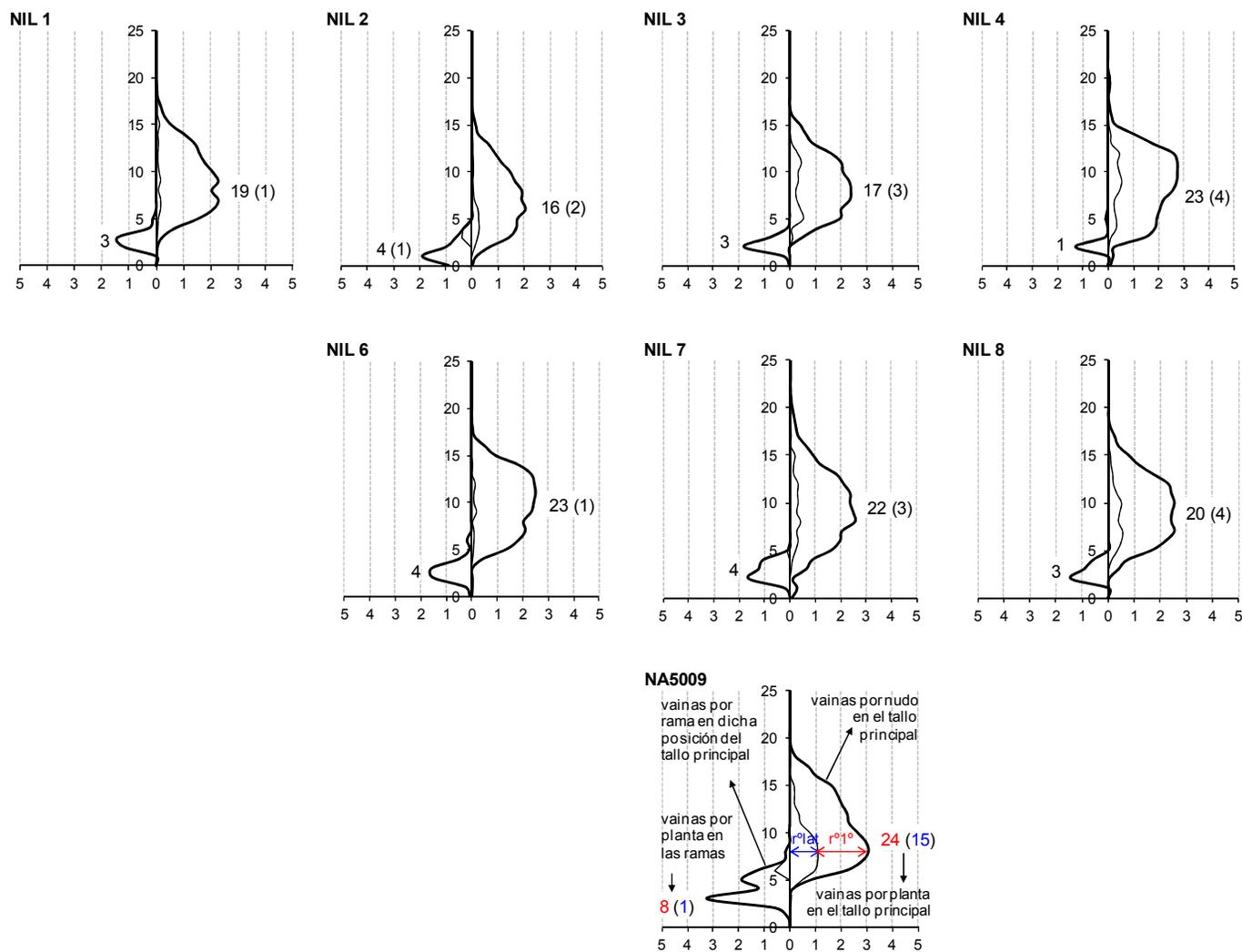


Figura A.3 (cont.). Perfil de distribución espacial de vainas a madurez **para** cada genotipo bajo plena radiación en la primera fecha de siembra del Exp3. Número de vainas por nudo del tallo principal (a la derecha del eje) y número de vainas por rama inserta en cada nudo del tallo principal (a la izquierda del eje). La línea gruesa representa el número total de vainas y la línea fina el número de vainas en los racimos laterales, ver referencias en el gráfico del genotipo NA5009.