

**INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LLENADO DE GRANO  
COMO FACTOR DETERMINANTE DE LA PRESENCIA DE  
GRANOS VERDES EN SOJA**

*Tesis presentada para optar al título de Magíster de la Universidad de Buenos Aires,  
Área de Producción Vegetal, orientación en cultivos extensivos*

**Gabriela Flavia Cencig**  
Ingeniera Agrónoma – FCA – UNER – 2002

Lugar de trabajo: INTA – Estación Experimental Rafaela



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

## COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

**Roberto Benech-Arnold**

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)  
Magister Scientiae (Universidad de Buenos Aires)  
Doctor of Philosophy (University of Southampton, Inglaterra)

Consejeros de estudios

**Adriana Graciela Kantolic**

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

**Jorge Luis Villar Ezcurra**

Ingeniero en Producción Agropecuaria (Universidad Católica Argentina)  
Magister Scientiae (University of Lincoln, Estados Unidos)

## JURADO DE TESIS

Director de tesis

**Roberto Benech-Arnold**

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)  
Magister Scientiae (Universidad de Buenos Aires)  
Doctor of Philosophy (University of Southampton, Inglaterra)

JURADO

**Deborah Rondanini**

Ingeniera Agrónoma  
Ingeniera Agrónoma (Universidad de Buenos Aires)  
Doctora en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires)  
Postdoctorado en CRILAR-CONICET

JURADO

**Fernando Salvagiotti**

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

*Fecha de defensa de la tesis: 12 de junio de 2013*

**Dedicado a**

A mi hermosa familia: *Manuel, Sofía y Matías*

## Agradecimientos

Agradezco al INTA por brindarme la posibilidad de realizar mis estudios de posgrado y ofrecerme los medios necesarios para la realización de este trabajo de tesis. De la misma manera, agradezco a la EPG de la FAUBA, por brindarme el espacio de formación y conectarme con profesionales de reconocida jerarquía.

Al mismo tiempo, deseo expresar mi agradecimiento a todas aquellas personas que me prestaron su colaboración en algún tramo de este trabajo:

A mi director de tesis, Ing. Agr. MSc. Ph.D Roberto Benech-Arnold, y a mi consejera de estudios, Ing. Agr. MSc. Dra. Adriana Kantolic, por su dedicación, buena predisposición y por las discusiones compartidas sobre cada uno de los experimentos.

A mi consejero de estudios y director de beca en INTA, Ing. Agr. MSc. Jorge Villar Ezcurra, por su acompañamiento durante la realización de este proyecto.

A los Sres. René Acastello, Antonio Boasso, Domingo Vasallo y José Blanche por el apoyo en las tareas de campo.

A María del Carmen Pérez y Alejandro Chiavassa por la contribución de información climática.

A los Ings. Roque Craviotto y Carina Gallo, por su apoyo en los análisis de semillas y el aporte de material bibliográfico.

A la Lic. Dra. Natalia Bulacio Cagnolo y Lic. Julieta Meke por la lectura de la tesis.

A Emanuel Orellano, Alejandro Chiavassa y René Acastello por el apoyo en la construcción de las carpas.

Al Ing. Agr. MSc. Juan Mattera por su colaboración con el formato de la tesis.

Finalmente a todas las personas que se cruzaron en este camino y que me dieron palabras de aliento y apoyo.

*El agradecimiento es la parte principal del hombre de bien.  
Francisco de Quevedo*

<b>Declaración</b>
--------------------

*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 las contribuciones de otros), y que ese material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.*

## INDICE GENERAL

Dedicatoria .....	iii
Agradecimientos .....	iv
Declaración.....	v
ÍNDICE GENERAL .....	vi
ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
Abreviaturas .....	xii
Resumen.....	xiii
Abstract .....	xiv
<b>CAPÍTULO 1</b>	
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL .....</b>	<b>1</b>
1.1. ANTECEDENTES.....	1
1.1.1. El cultivo de soja en Argentina.....	1
1.1.3. Generalidades de los granos verdes de soja.....	2
1.1.4. Presencia de granos verdes en la comercialización de soja.....	3
1.1.5. Efectos causados por la presencia de granos verdes en la industrialización .....	3
1.1.6. Efectos causados por las semillas verdes en lotes con destino a simiente .....	4
1.1.7. Causas probables de la aparición de grano verde en soja.....	5
1.2. HIPÓTESIS .....	7
1.3. OBJETIVO GENERAL .....	7
1.4. OBJETIVOS PARTICULARES .....	7
<b>CAPÍTULO 2</b>	
<b>PRESENCIA DE GRANO VERDE EN SOJA EN CONDICIONES DE PRODUCCIÓN. ....</b>	<b>8</b>
2.1. INTRODUCCIÓN .....	8
2.2. OBJETIVOS.....	9
2.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
2.4. RESULTADOS .....	12
2.4.1. Evaluación fenológica .....	12
2.4.2. Caracterización ambiental .....	12
2.4.3. Presencia de grano verde .....	24
2.4.4. Manifestación de grano verde y su asociación a la temperatura durante el llenado .....	28
2.5. DISCUSIÓN .....	33
2.6. CONCLUSIONES .....	36
<b>CAPÍTULO 3</b>	
<b>ESTRÉS TÉRMICO Y MOMENTO CRÍTICO DE LA SOJA PARA LA APARICIÓN DE GRANO VERDE.....</b>	<b>37</b>
3.1. INTRODUCCIÓN .....	37
3.1.1. Maduración de la semilla de soja.....	37
3.1.2. Influencia de la temperatura en la degradación de clorofila.....	37
3.1.3. Momento fenológico en el que ocurre el estrés y su efecto sobre la determinación de granos verdes .....	38

3.2. OBJETIVO .....	39
3.3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	40
3.3.1. Experimento 1: Ajuste de metodologías. Campaña 2006/07 .....	40
3.3.2. Experimento 2: Efecto de la imposición de estrés térmico con buena disponibilidad hídrica. Campaña 2007/08 .....	41
3.3.3. Experimento 3: Efecto de la imposición de estrés térmico en condiciones de déficit hídrico. Campaña 2008/09 .....	43
3.3.3.1. <i>Germinación estándar</i> .....	44
3.4. RESULTADOS .....	45
3.4.1. Experimento 1: Ajuste de metodologías. Campaña 2006/07 .....	45
3.4.2. Experimento 2: Efecto de la imposición de estrés térmico con buena disponibilidad hídrica. Campaña 2007/08 .....	47
3.4.3. Experimento 3: Efecto de la imposición de estrés térmico bajo condiciones de déficit hídrico. Campaña 2008/09 .....	51
3.4.3.1. <i>Germinación estándar</i> .....	58
3.5. DISCUSIÓN .....	59
3.6. CONCLUSIONES .....	63
CAPÍTULO 4	
LONGEVIDAD POTENCIAL DE LOTES DE SEMILLA DE SOJA CON GRANO VERDE .....	
4.1. INTRODUCCIÓN .....	64
4.2. OBJETIVO .....	65
4.3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	66
4.3.1. Estimación de la longevidad potencial en lotes con presencia de semilla verde..	66
4.3.2. Capacidad de almacenaje de lotes con semilla verde.....	67
4.4. RESULTADOS .....	67
4.4.1. Longevidad potencial .....	67
4.4.2. Capacidad de almacenaje .....	69
4.5. DISCUSIÓN .....	70
4.6. CONCLUSIONES .....	71
CAPÍTULO 5	
5.1. DISCUSIÓN GENERAL .....	72
5.2. CONSIDERACIONES FINALES .....	74
5.3. IMPLICANCIAS PARA EL MANEJO DEL CULTIVO .....	74
5.4. PERSPECTIVAS PARA FUTURAS INVESTIGACIONES .....	74
BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	76
APÉNDICE I.....	83
APÉNDICE II.....	84
APÉNDICE III.....	89
APÉNDICE IV.....	90
APÉNDICE V.....	91

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1: Fechas de siembra (FS) de soja. Campañas 2004/05 a 2008/09.....	9
Cuadro 2.2: Cultivares de soja por grupo de maduración (GM) y por campaña.....	10
Cuadro 2.3: Fechas de muestreo del contenido de agua útil (AU), campañas 2004/05 a 2008/09.....	11
Cuadro 2.4: Fechas de muestreo y contenido de agua útil (AU), campañas 2004/05 a 2008/09.....	14
Cuadro 2.5: Presencia de grano verde (%GV) en 5 fechas de siembra (día-mes). Campaña 2004/05.....	24
Cuadro 2.6: Presencia de grano verde (%GV) en 5 fechas de siembra (día-mes). Campaña 2005/06.....	25
Cuadro 2.7: Presencia de grano verde (%GV) en cuatro fechas de siembra (día-mes). Campaña 2006/07.....	25
Cuadro 2.8: Presencia de grano verde (%GV) en cuatro fechas de siembra (día-mes). Campaña 2008/09.....	26
Cuadro 2.9: Coeficientes de correlación de Spearman. Campañas 2004/05 a 2008/09.....	28
Cuadro 3.1: Incremento de la temperatura media y amplitud térmica máxima logrados con el uso de la carpa de polietileno vs. “techo” en cuatro períodos.....	46
Cuadro 3.2: Fechas de ocurrencia de los inicios de M1, M2 y M3 y fin de M3 (R7). Soja DM4200, campaña 2007/08.....	47
Cuadro 3.3: Fechas de ocurrencia de los inicios de M1, M2 y M3 y fin de M3 (R7). Soja DM4200, EEA Rafaela, campaña 2008/09. El sombreado indica el período de imposición de estrés térmico mediante carpas de polietileno.....	51
Cuadro 3.4: Porcentaje de granos verdes (%GV) según el momento (M) dentro del llenado en que se produjo estrés térmico. EEA Rafaela, 2008/09.....	55
Cuadro 3.5: Déficit hídrico (mm) para cada momento del período de llenado en tres fechas de siembra. Soja DM4200, EEA Rafaela, 2008/09.....	55
Cuadro 3.6: Proporciones de granos total y parcialmente verdes para cada estrato de la planta. EEA Rafaela, 2008/09.....	57
Cuadro 3.7: Rendimiento de soja y sus componentes, según el momento (M) dentro del llenado en que se produjo estrés térmico. Soja DM4200, campaña 2008/09.....	57
Cuadro 3.8: Poder germinativo de la soja para tres tratamientos (Momentos) y con o sin acentuación de la temperatura.....	59
Cuadro 4.1: Poder germinativo (PG%), Prueba de envejecimiento acelerado (PEA: PG% a 48 h de envejecimiento) y Longevidad potencial (Ki) en muestras de semilla de soja con distintos niveles de grano verde (% GV).....	69
Cuadro 4.2: Período probable de almacenaje de lotes de soja con distintos niveles de semilla verde, mantenidos en atmósfera controlada regulada a una temperatura media de 8°C y considerando una humedad de cosecha del 12,5%.....	70
Cuadro 4.3: Período probable de almacenaje de lotes de soja con distintos niveles de semilla verde, mantenidos a una temperatura media de 20°C y considerando una humedad de cosecha del 12,5% .....	71
Cuadro I.1. Norma de calidad para la comercialización de soja. NORMA XVII.....	83
Cuadro II.1: Fechas de siembra y de los estados fenológicos R1, R3, R5, R6, R7 y R8 de diferentes cultivares de soja para Rafaela, campaña 2004/05.....	84
Cuadro II.2: Fechas de siembra y de los estados fenológicos R1, R3, R5, R6, R7 y R8 de diferentes cultivares de soja para Rafaela, campaña 2005/06.....	85
Cuadro II.3: Fechas de siembra y de los estados fenológicos R1, R3, R5, R6, R7 y R8 de diferentes cultivares de soja para Rafaela, campaña 2006/07.....	86
Cuadro II.4: Fechas de siembra y de los estados fenológicos R1, R3, R5, R6, R7 y R8 de diferentes cultivares de soja para Rafaela, campaña 2007/08.....	87
Cuadro II.5: Fechas de siembra y de los estados fenológicos R1, R3, R5, R6, R7 y R8 de diferentes cultivares de soja para Rafaela, campaña 2008/09.....	88
Cuadro III.1: Análisis de la varianza.....	89
Cuadro III.2: Análisis de la Interacción.....	89



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1: Región sojera argentina. Tomado de Cuniberti <i>et al.</i> , 2004.....	1
Figura 1.2: Granos verdes de soja, cultivar DM3100 FS: 10/11/05.....	2
Figura 1.3: Clorofila total ( <i>a + b</i> ) y contenido de humedad de semillas de soja inmediatamente posterior a su cosecha en distintos momentos durante el final del llenado y la maduración normal de semillas de soja. Adaptado de Sinnecker <i>et al.</i> , 2005.....	3
Figura 1.4: Aceite obtenido de soja normal y de granos verdes. Tomado de Cuniberti <i>et al.</i> , 2004.....	4
Figura 1.5: Porcentaje de grano verde en las campañas 2003/04 a 2008/09. Región sojera dada por el SO santafecino, S de Santa Fe, SE, SO, y NE de Córdoba y N de Buenos Aires. Tomado de Cuniberti <i>et al.</i> , 2009.....	5
Figura 1.6: Temperatura media del mes de Enero y su tendencia, para el período 1980-2009. Elaborado a partir de datos de la Estación Agro meteorológica del INTA Rafaela.....	6
Figura 2.1: Vista panorámica del ensayo correspondiente a la segunda fecha de siembra, campaña 2008/09. Nota: la imagen muestra distintos cultivares en diferentes momentos de su ciclo.....	10
Figura 2.2: Temperatura media diaria para cada campaña (promedios móviles cada 5 días) para las campañas 2004/05 y 2005/06 (A) y 2006/07, 2007/08 y 2008/09 (B). La curva negra indica temperatura media histórica (1971-2006). Datos de la Estación Agrometeorológica de la EEA Rafaela.....	13
Figura 2.3: Lluvias mensuales período Septiembre – Abril en 5 campañas y promedio histórico (1930-2006). Datos de la Estación Agrometeorológica de la EEA Rafaela....	14
Figura 2.4: Balance hídrico diario para soja DM4200, Rafaela, fecha de siembra 16 de septiembre de 2004. ETm: evapotranspiración máxima (Penman-Monteith), ETc: evapotranspiración del cultivo. Líneas verticales muestran el inicio (R5) y el fin (R7) del período del llenado de granos.....	15
Figura 2.5: Balance hídrico diario para soja DM4870 con fecha de siembra 27 de octubre (A), 10 de noviembre (B) y 28 de noviembre (C) de 2005, en Rafaela. ETm: evapotranspiración máxima (Penman-Monteith), ETc: evapotranspiración del cultivo. Líneas verticales muestran el inicio (R5) y el fin (R7) del período del llenado de granos.....	16
Figura 2.6: Balance hídrico diario para soja DM4870 con fecha de siembra 6 (A) y 22 (B) de noviembre de 2006 en Rafaela. ETm: evapotranspiración máxima (Penman-Monteith), ETc: evapotranspiración del cultivo. Líneas verticales muestran el inicio (R5) y el fin (R7) del período del llenado de granos.....	17
Figura 2.7: Balance hídrico diario para soja A6411 con fecha de siembra del 6 de noviembre (A) y 22 de noviembre (B) de 2006 en Rafaela. ETm: evapotranspiración máxima (Penman-Monteith), ETc: evapotranspiración del cultivo. Líneas verticales muestran el inicio (R5) y el fin (R7) del período del llenado de granos.....	18
Figura 2.8: Balance hídrico diario para soja sembrada el 13 de noviembre de 2007 en Rafaela: cultivar DM4870 (A) y A6411 (B). ETm: evapotranspiración máxima (Penman-Monteith), ETc: evapotranspiración del cultivo. <i>Líneas verticales muestran el inicio (R5) y el fin (R7) del período del llenado de granos.</i> .....	19
Figura 2.9: Balance hídrico diario para soja sembrada el 22 de octubre de 2008 en Rafaela: cultivar DM4200 (A) y A6411 (B). ETm: evapotranspiración máxima (Penman-Monteith), ETc: evapotranspiración del cultivo. <i>Líneas verticales muestran el inicio (R5) y el fin (R7) del período del llenado de granos.</i> .....	20
Figura 2.10: Déficit hídrico (mm) de la etapa R5-R7 para las campañas 2004/05 (A), 2005/06 (B), 2006/07 (C), 2007/08 (D) y 2008/09 (E).....	22
Figura 2.11: Déficit hídrico (mm) de la etapa R5-R6 y R6-R7 para las campañas 2004/05 (A), 2005/06 (B), 2006/07 (C), 2007/08 (D) y 2008/09 (E).....	24
Figura 2.12: Contenido de grano verde (%GV) de diferentes cultivares de soja en relación a la quincena del mes en que se efectuó su siembra. Promedio de las campañas 2004/05, 2005/06, 2006/07 y 2008/09. Las barras muestran el error estándar y los números sobre las columnas definen el n (número de genotipos por año en que se lo evaluó)	26
Figura 2.13: Contenido de grano verde (%GV) por cultivar de soja ordenados de acuerdo a la duración del ciclo. Promedio de las campañas 2004/05, 2005/06, 2006/07 y 2008/09. Las barras muestran el error estándar y los números sobre las columnas definen el n	

(número de campañas por fecha de siembra en que se evaluó cada genotipo).....	27
Figura 2.14: Representación biplot del aporte a la interacción genotipo x ambiente en la manifestación de grano verde de soja para 11 cultivares en seis ambientes o fechas de siembra. EEA Rafaela, campañas 2004/05-2005/06-2006/07 y 2008/09.....	28
Figura 2.15: Biplot según el plano conformado por las dos primeras componentes principales (CP1 y CP2). Los puntos representan a los casos (GM III a VII) y los vectores a las variables.....	29
Figura 2.16: Biplot según el plano conformado por las dos primeras componentes principales (CP1 y CP2). Los puntos representan a los casos (FS) y los vectores a las variables.....	30
Figura 2.17: Porcentaje de granos verdes en soja en relación a la temperatura media diaria promedio en la etapa 75 a 100% del llenado de granos (medido en días). Cosechas 2005 y 2006. El orden de las ecuaciones se corresponde con el de la referencia de las variedades.....	31
Figura 2.18: Porcentaje de granos verdes en soja en relación al déficit hídrico en la etapa 75 a 100% del llenado de granos (medido en días). Cosechas 2005 y 2006. El orden de las ecuaciones se corresponde con el de la referencia de las variedades.....	31
Figura 2.19: Porcentaje de granos verdes en soja de diferentes genotipos, en relación a la temperatura media diaria promedio en la etapa R6-R7 cuando el déficit hídrico durante R5-R7 fue mayor a 35 mm. El orden de las ecuaciones se corresponde con el de la referencia de las variedades.....	32
Figura 2.20: Porcentaje de granos verdes en soja DM4870 (A) y otros genotipos (B), en relación al déficit hídrico durante R5-R7 cuando la temperatura media diaria promedio en la etapa R6-R7 fue mayor o igual a 23,5°C.....	33
Figura 2.21: Porcentaje de granos verdes en soja en relación al déficit hídrico durante R5-R7 cuando la temperatura media diaria promedio en la etapa R6-R7 fue menor a 23,5°C. Los puntos corresponden a valores de diferentes genotipos.....	33
Figura 3.1: Variación de la actividad clorofilasa por efecto de la temperatura. Adaptado de Holden (1961). Nota: Units es la cantidad con la que se cataliza la ruptura del 10% de sustrato de clorofila a clorofilida en una hora.....	38
Figura 3.2: Vistas de la carpa de polietileno para imposición de estrés térmico y del techo (carpa sin laterales).....	40
Figura 3.3: Vista del sensor de temperatura y humedad relativa dentro de una carpa.....	41
Figura 3.4: Vistas del Experimento 2. ....	42
Figura 3.5: Vista general y detalle del sistema de riego. El detalle muestra las cintas de riego ubicadas sobre cada surco de siembra.....	42
Figura 3.6: Imágenes de granos parcialmente verdes (A) y totalmente verdes (B). Cultivar de soja DM4200, campaña 2008/09.....	44
Figura 3.7: Vistas de la siembra de muestras para el ensayo de germinación. Rafaela, campaña 2008/09.....	44
Figura 3.8: Vista de las muestras del ensayo de germinación dentro de la estufa. Rafaela, campaña 2008/09.....	45
Figura 3.9: Evolución de la temperatura exterior y en el interior de la carpa sin laterales (“techo”). EEA Rafaela, campaña 2006/07.....	45
Figura 3.10: Evolución de la temperatura en el interior de la carpa y en la carpa testigo sin los laterales (“techo”). EEA Rafaela, campaña 2006/07.....	46
Figura 3.11: Evolución del contenido de humedad de los granos de soja de los nudos 4° y 5°, para el inicio de cada momento de llenado (M). Soja DM4200, campaña 2007/08. Nota: Cada punto es el promedio de tres repeticiones de trilla de 50 vainas.....	47
Figura 3.12: Evolución de la temperatura en el interior de la carpa y en el testigo. FS 1: 23/10/07, Rafaela, campaña 2007/08. M1: R5 – R5.5; M2: R5.5 – R6 y M3: R6 – R7.....	48
Figura 3.13: Evolución de la temperatura en el interior de la carpa y en el testigo. FS 2: 05/12/07, Rafaela, campaña 2007/08. M1: R5 – R5.5; M2: R5.5 – R6 y M3: R6 – R7.....	48
Figura 3.14: Evolución de la temperatura en el interior de la carpa y en el testigo. FS 3: 18/12/07, Rafaela, campaña 2007/08. M1: R5 – R5.5; M2: R5.5 – R6 y M3: R6 – R7.....	48
Figura 3.15: Lluvias decadales registradas entre septiembre/07 y abril/08. Se recuadran los períodos de llenado para tres fechas de siembra, siendo FS1: 23/10/07; FS2: 05/12/07 y FS3: 18/12/07. Rafaela, campaña 2007/08.....	49

Figura 3.16: Rendimientos de soja con y sin estrés térmico acentuado en tres fechas de siembra y para tres momentos dentro del período de llenado de granos. EEA Rafaela campaña 2007/08.....	50
Figura 3.17: Rendimientos de soja DM4200 con y sin estrés térmico acentuado, en relación al promedio de las temperaturas medias diurnas (9-18hs) para tres momentos (M) dentro del período de llenado de granos.....	50
Figura 3.18: Peso de 1000 granos en relación al promedio de las temperaturas diurnas (9 – 18 hs), para tres momentos del llenado. A: momento 1; B: momento 2 y C: momento 3. Símbolos: ○, ●, ●, indican FS 1, 2 y 3, respectivamente. <i>Las líneas corresponden a la recta de regresión</i> .....	51
Figura 3.19: Número de granos por metro cuadrado en relación al promedio de las temperaturas diurnas (9 – 18 hs), para tres momentos del llenado. A: momento 1; B: momento 2 y C: momento 3. Símbolos: ○ ● ●, indican FS 1, 2 y 3, respectivamente. <i>Las líneas corresponden a la recta de regresión</i> .....	51
Figura 3.20: Marcha térmica y precipitaciones para Rafaela, período 1/oct/08 a 30/mar/09 y evolución de los estados reproductivos de soja para 3 fechas de siembra (FS1: 17/10/08, FS2: 03/11/08 y FS3: 24/11/08).....	52
Figura 3.21: Balance hídrico diario para soja DM4200 y su evolución fenológica. A: FS1, B: FS2 y C: FS3. La flecha en doble sentido indica el momento de imposición de estrés térmico.....	53
Figura 3.22: Temperatura media y máxima promedio en el testigo (Ambiente) y en el interior de la carpa, para tres momentos (M) del período del llenado. Soja DM4200, Rafaela, campaña 2008/09.....	54
Figura 3.23: Evolución de la temperatura en el interior de la carpa y en el testigo. Rafaela, campaña 2008/09. M3 (FS: 24/11/08); M2 (FS: 03/11/08) y M1 (FS: 17/10/08).....	54
Figura 3.24: Porcentaje de grano verde en soja en dos estratos de la planta y para cada tratamiento (M1, M2 y M3). Soja DM4200, campaña 2008/09. <i>Letras distintas indican diferencias significativas, Test: LSD Fisher, <math>\alpha=0,05</math></i> .....	56
Figura 3.25: Vainas de soja con granos verdes y amarillos. Soja DM4200, campaña 2008/09.....	56
Figura 3.26: Relación entre el rendimiento de grano de soja DM4200 y el déficit hídrico durante las etapas R5-R5,5 (A); R5,5-R6 (B) y R6-R7 (C). EEA Rafaela campaña 2008/09. Símbolos: ●, ▲ y ◆ representan a los tratamientos M1, M2 y M3 respectivamente (tratamientos no calentados).....	58
Figura 3.27: Bandejas resultantes del ensayo de germinación, a) Momento 3 y b) Momento 1. Rafaela, campaña 2008/09. ....	59
Figura 4.1: Evolución de la viabilidad en porcentaje a lo largo del período de envejecimiento acelerado en lotes de soja DM4200 con distintos niveles de %GV.....	68
Figura 4.2: Evolución de la viabilidad en escala Probit a lo largo del período de envejecimiento acelerado en lotes de soja DM4200 con distintos niveles de grano verde.....	68
Figura 4.3: Longevidad potencial Ki (A) y %PG (B) en función del porcentaje de grano verde (%GV) en lotes de soja DM4200. Rafaela 2008/09.....	69
Figura IV.1: Porcentaje de granos verdes en soja de diferentes genotipos, en relación a la temperatura media diaria durante la etapa R6-R7 cuando el déficit hídrico durante R5-R7 fue menor a los 35 mm.....	90
Figura V.1: Transformación de la curva de viabilidad de semillas en escala porcentual hacia la línea en escala probit (Kruse, et al., 2005).....	91

## Abreviaturas

ACP: análisis de componentes principales

AMMI: *Additive Main effects and Multiplicative Interaction* (modelos de efectos aditivos e interacción multiplicativa)

AU: agua útil

BCR: Bolsa de Comercio de Rosario

BH: Balance hídrico

Etc: Evapotranspiración del cultivo

Etm: Evapotranspiración máxima

FD: fecha de siembra

GM: Grupo de madurez de soja

GV: Grano verde

HR: Humedad relativa

INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

ISTA: Asociación Internacional de Análisis de Semillas

Ki: Longevidad potencial del lote de semillas

MAGyP: Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca

PEA: Prueba de Envejecimiento Acelerado

PG: Poder germinativo del lote de semillas

RECSO: Red de Evaluación de Cultivares de Soja

SAGPyA: Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca

SENASA: Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria

SIIA: Sistema Integrado de Información Agropecuaria del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca

## Resumen

### INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN LLENADO DE GRANO COMO FACTOR DETERMINANTE DE LA PRESENCIA DE GRANOS VERDES EN SOJA.

Una de las características que define la calidad de los granos de soja es la presencia de granos verdes (GV). Estos exhiben una coloración verdosa, total o parcial, debida a la presencia de pigmentos clorofílicos no degradados durante el proceso de maduración de los granos. A pesar de que algunas evidencias sugieren que la presencia de GV se asocia a que parte del ciclo del cultivo coincida con temperaturas altas, no se encontraron en la bibliografía trabajos que confronten fehacientemente las condiciones ambientales con la presencia de GV en el cultivo de soja en condiciones de campo. Más aún, aunque se presume que la temperatura durante la fase de llenado está involucrada en modular la incidencia de GV, se desconoce si los efectos están asociados a los períodos tempranos del llenado, cuando predomina la formación de los granos, a la fase de crecimiento intermedia o a las fases finales, en las que se degrada la clorofila y se alcanza la madurez. El objetivo de este trabajo fue producir información que contribuya a desarrollar estrategias de manejo adecuadas para reducir la incidencia de GV en los sistemas de producción de soja, sobre la base de la identificación de las condiciones ambientales que determinan su aparición. Durante las campañas agrícolas 2004/05 a 2008/09, se realizaron ensayos a campo combinando diferentes fechas de siembra y genotipos, de modo de generar un escalonamiento de la etapa de maduración de los granos. Se realizaron además, dos ensayos a campo en condiciones semi-controladas. En todos los casos se evaluó el porcentaje de GV y se analizó su asociación con la temperatura y el déficit hídrico en diferentes momentos del llenado. Las altas temperaturas por sí solas no fueron determinantes de la aparición de granos verdes en el cultivo de soja ni en los experimentos de siembras escalonadas ni en los llevados a cabo en forma semi-controlada. Por el contrario, condiciones de altas temperaturas durante las etapas finales del llenado en combinación con estrés hídrico favorecieron la presencia de GV. Los genotipos más afectados fueron los de ciclo precoz (GM III y IV), sembrados en fechas tempranas, ya que ubicaron el llenado en condiciones conducentes de la aparición de GV. Los genotipos de GM largos no exploraron, en Rafaela, condiciones conducentes a la aparición de GV. La almacenabilidad de las semillas fue afectada en mayor medida por el %GV que por el valor de PG inicial, luego de la cosecha.

*Palabras claves:* soja, grano verde, altas temperaturas, déficit hídrico, almacenabilidad de las semillas.

## **Abstract**

### **INFLUENCE OF TEMPERATURE ON GRAIN FILLING AS A FACTOR DETERMINING THE PRESENCE OF GREEN BEANS IN SOYBEAN.**

The presence of green seeds (GV) is a characteristic that defines seed quality in soybean. This kind of seeds has a greenish color in all or in part of the seed, due to the presence of un-degraded chlorophyll pigments during ripening. Although it is thought that the presence of GV is associated with the coincidence of high temperatures, no crucial experiments are found in the literature relating environmental conditions with the presence of GV in soybean under field conditions. Moreover, although it is assumed that temperature during the seed filling period is involved in modulating GV, it is unknown whether the effects are associated with the early filling periods, when the grains are formed, the intermediate growth phase, or the final stages, in which chlorophyll is degraded and the grains reach maturity. The objective of this study was to develop management strategies that reduce the incidence of GS in soybean production systems, by identifying environmental conditions that determine its appearance. Field trials were conducted between 2004 to 2009 seasons, combining different planting dates and genotypes, in order to generate a staggering in the maturation stage of the grains. In addition, two complementary field trials were carried out under semi-controlled conditions. In all cases GV percentage was evaluated and relationships between GV percentage and temperature or water deficit at different stages of grain filling were analyzed. Both (field and semi-controlled experiments) showed that high temperatures alone do not determine the appearance of GV in soybean, but high temperature conditions during the final stages of grain filling combined with water stress favor its presence. Early season genotypes (maturity groups III and IV), planted in early dates, were the most affected because the most vulnerable period coincided with climatic conditions that apparently favor GV appearance. Long season genotypes did not have, in Rafaela, favorable conditions to the GV appearance. It was also found that the GV percentage affected seed storability rather than the initial value of seed germination after harvest.

Keywords: soybeans, green seeds, high temperature, water stress, seed storability.

# CAPÍTULO 1

## INTRODUCCIÓN GENERAL

### 1.1. ANTECEDENTES

#### 1.1.1. El cultivo de soja en Argentina

En Argentina, la superficie implantada con soja [*Glycine max* (L.) Merr.], según datos del Sistema Integrado de Información Agropecuaria del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (SIIA, 2011) fue, en la campaña 2010/2011, mayor a 18,8 millones de hectáreas, superando en un 3,0% a la campaña anterior. En la provincia de Santa Fe, en la misma campaña se cosecharon 3,1 millones de hectáreas, que representaron el 16,5% del total país. El rendimiento promedio en la mencionada provincia fue de 3.148 kg/ha, superando al promedio nacional en un 20,8%.

La soja representa casi el 91% de la producción de semillas de oleaginosas y el 45% del total de granos producidos en Argentina, luego de haber exhibido un constante crecimiento a lo largo de las últimas tres décadas (Bergero, 2006). La gran difusión del cultivo se debe fundamentalmente a que se adapta a un amplio rango de condiciones edáficas y climáticas, más allá de los beneficios económicos para los productores que la adoptan. Actualmente, ocupa una amplia zona ecológica (Figura 1.1) que se extiende desde los 23° LS a los 39° LS, concentrándose principalmente en la región Pampeana Norte (Cuniberti *et al.*, 2004).

La Argentina ocupa el tercer lugar como productor y exportador de grano de soja en el mundo (detrás de Estados Unidos y de Brasil), y es el principal exportador internacional de aceite y harina derivados de la oleaginosa con el 63 y 44%, respectivamente (Giancola *et al.*, 2009). Por lo tanto, las características que definen la calidad industrial del grano condicionan fuertemente el sostenimiento o eventual crecimiento de los mercados de este cultivo.

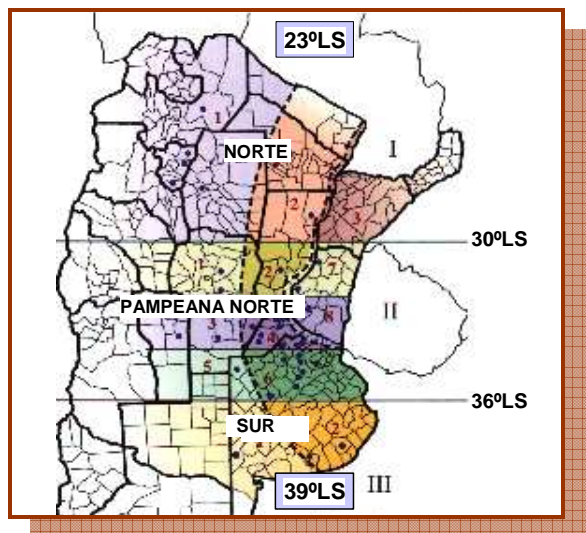


Figura 1.1: Región sojera argentina. Tomado de Cuniberti *et al.*, 2004.

### 1.1.2. Problemática de los granos verdes

Los **granos verdes** (Figura 1.2) se presentan como resultado de una coloración verdosa, total o parcial, debida a la presencia de pigmentos clorofílicos que no fueron degradados durante el proceso de maduración de los granos (Craviotto y Arango, 2001, Sinnecker, 2002, Sinnecker *et al.*, 2005, Zorato *et al.*, 2007).



Figura 1.2: Granos verdes de soja, cultivar DM3100 FS: 10/11/05.

Los primeros casos de incremento en la proporción de granos verdes en el país fueron reportados por Cuniberti *et al.* (2001), quienes adjudicaron como causa a la difusión de la denominada soja de primavera (de siembra anticipada con grupos de madurez precoces) en la región pampeana norte. A partir de entonces, la presencia de granos verdes continúa siendo un problema (Craviotto y Arango, 2005, Cuniberti *et al.*, 2004, 2006, 2008 y 2009; Rossi, 2003; Parra, 2005; Bragachini, 2005; Fuentes y Suárez, 2006) sobre todo en la primera parte de la ventana de cosecha, que se extiende entre finales de marzo y principios de abril, para dicha zona de producción.

### 1.1.3. Generalidades de los granos verdes de soja

Los granos verdes (GV) de soja son el resultado de la degradación parcial de su clorofila, lo que produce que los cotiledones conserven diferentes intensidades de color verde.

Normalmente, el grano de soja alcanza la madurez fisiológica cuando alcanza su máxima acumulación de peso seco, que coincide con un cambio de coloración verde a amarillo debido a la degradación de la clorofila por la acción de las enzimas clorofilasas y con un contenido de humedad del grano entre 54-62% (Tekrony *et al.*, 1979). Previo a este estado, cuando las semillas están completamente formadas (estado R6 de acuerdo a Fehr y Caviness, 1977) la semilla contiene aproximadamente 70% humedad y su nivel de clorofila es de 500 mg kg<sup>-1</sup>, aproximadamente. Sinnecker *et al.* (2005), encontraron que la pérdida de humedad es relativamente lenta desde 71,6% en R6 hasta 62,1%, para luego disminuir de manera rápida hasta 13,3% en madurez completa o R8 (Figura 1.3), mientras que la clorofila disminuye de manera exponencial a partir de R6 hasta su casi completa desaparición.



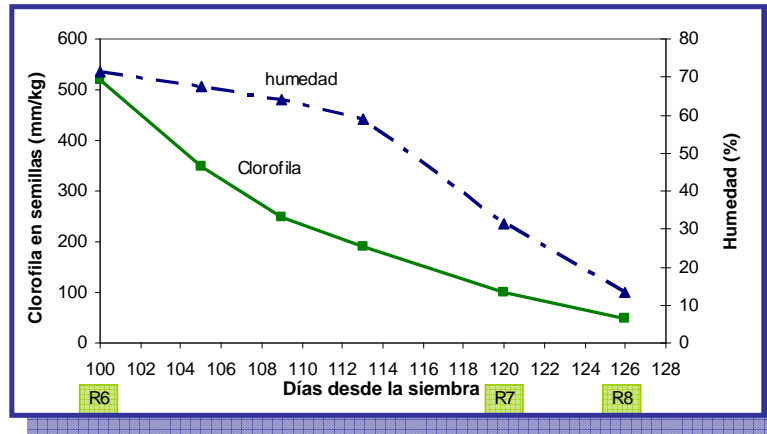


Figura 1.3: Clorofila total ( $a + b$ ) y contenido de humedad de semillas de soja en distintos momentos durante el final del llenado y la madurez. En el eje X se indican los comienzos de los estados del periodo de llenado de granos. Adaptado de Sinnecker *et al.* (2005).

#### 1.1.4. Presencia de granos verdes en la comercialización de soja

En Argentina, hasta el año 2004 los GV eran incluidos dentro del grupo de “granos dañados” (Apéndice I, Cuadro I.1) pero, a partir de su incremento, se modificaron los estándares de comercialización de la oleaginosa.

Mediante Resolución N° 801/2004 de la ex-SAGPyA, se creó una nueva categoría para tipificarlos, considerando como “grano verde” a **todo grano o pedazo de grano que presente externamente cualquier intensidad de coloración verdosa, total o parcial**. En lo que respecta a su base de comercialización y nivel de tolerancia, la Resolución vigente es la N° 151/2008, del SENASA, que establece una tolerancia de recibo del 10,0% y un descuento del 0,2% por cada punto por encima de la base de 5,0% de grano verde (Apéndice I, Cuadro I.1). Entonces, con la definición adoptada por estas resoluciones, cualquier grano con la mínima expresión de alguna tonalidad de color verde se considera GV.

#### 1.1.5. Efectos causados por la presencia de granos verdes en la industrialización

Los problemas que ocasionan los granos verdes en la industrialización del producto están determinados por la presencia de una textura blanda que no permite el quiebre adecuado de los granos (Tanoni, 2005). Además, la presencia de una textura pastosa hace que los laminadores no obtengan láminas o “flakes” con las propiedades necesarias para realizar una óptima extracción del aceite. Sumado a esto, el aceite crudo obtenido tiene una coloración verdosa, producto del contenido del pigmento de clorofila proveniente de los granos verdes (Figura 1.4). Debido a que las clorofilas son potentes agentes oxidantes, la calidad del aceite contaminado con ella podría verse perjudicada, ya que se elevaría el contenido de compuestos volátiles producto de la oxidación, sobre todo si el aceite es almacenado en presencia de luz (Mandarino, 2005).

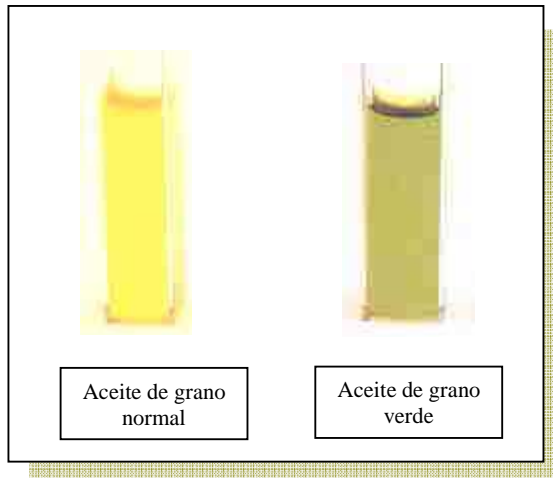


Figura 1.4: Aceite obtenido de soja normal y de granos verdes. Tomado de Cuniberti *et al.*, 2004.

Todo lo mencionado ocasiona problemas en la comercialización, ya que para quitarle el color verde al aceite, se debe recurrir al refinado con tierras de filtrado especiales que absorben la clorofila, haciendo que se encarezca el proceso. Además, los granos verdes se presentan muchas veces arrugados lo que dificulta en su industrialización el proceso de descascarado, debido a que su tegumento se encuentra muy adherido (Cuniberti *et al.*, 2004).

#### 1.1.6. Efectos causados por las semillas verdes en lotes con destino a simiente

Existen evidencias que señalan que la presencia de grano verde en lotes de soja afectaría negativamente su calidad para ser utilizado como simiente, ya que causaría reducciones en los valores de germinación, viabilidad y vigor (Pádua *et al.*, 2007). Esto haría de la presencia de grano verde un factor importante a tener en cuenta al momento de decidir si el destino del lote será la siembra. En este sentido, Gallo *et al.* (2006), determinaron que con niveles superiores al 5% de semilla verde se afecta la calidad del lote en términos de capacidad germinativa y vigor al momento de la siembra, lo que no permitiría su uso como simiente. En investigaciones realizadas por Gallo *et al.* (2008 b), en el Laboratorio de Semillas del INTA Oliveros, provincia de Santa Fe, las semillas verdes presentaron baja germinación ( $PG < 16\%$ ) y bajo vigor en la prueba de envejecimiento acelerado ( $PG < 10\%$ ). Los mismos autores mencionan que estas semillas presentan alteración en la integridad de las membranas celulares y baja viabilidad, siendo por lo tanto semillas de mala calidad fisiológica. A pesar de estas evidencias, es necesario confirmar dichas conclusiones a través de la medición de variables del lote que inequívocamente muestren que la presencia de grano verde adelanta lo suficiente el momento en el que comienza el deterioro fisiológico durante el almacenaje, como para que la calidad del mismo se encuentre seriamente comprometido al momento de la próxima siembra. En este sentido, Justice (1978) menciona que el ambiente que experimentan las semillas durante su desarrollo y maduración incide sobre la longevidad durante su almacenamiento. El empleo de la variable Longevidad Potencial o Constante del Lote ( $K_i$ ) que se deriva de la ecuación de viabilidad (Ellis y Roberts, 1981) se presenta como la adecuada a fin de explicar el comportamiento del lote de semilla con presencia de grano verde. Esta ecuación permite predecir el porcentaje de viabilidad de las semillas luego de un período de tiempo de

almacenamiento bajo un amplio rango de condiciones de temperatura y contenido de humedad. En este sentido, Dickie *et al.* (1990) mencionan que la ecuación de viabilidad ha sido utilizada en numerosas especies para estimar la pérdida de viabilidad durante el almacenaje.

Entonces, como ha sido referido en las secciones anteriores, la problemática del grano verde involucra a varios sectores de la Cadena de la Soja Argentina, afectando desde los semilleros, productores, acopiadores, industriales, exportadores, organismos de ciencia y técnica, hasta la demanda final del producto. Teniendo en cuenta que el principal destino de la de soja lo constituye la exportación, ya sea como grano, harina o aceite, esta situación aparece como un problema de tal magnitud que justifica ser estudiado. Para disminuir o, al menos, predecir el riesgo de presencia de la semilla con esta alteración, resulta necesario comprender las relaciones entre las variables ambientales y la presencia de grano verde, como así también cuantificar los efectos de esta alteración sobre la calidad fisiológica de la semilla.

#### 1.1.7. Causas probables de la aparición de grano verde en soja

La presencia de GV a nivel nacional ha sido, en general, más común en la región sojera norte que en las pampeana y sur, más habitual en cultivares de ciclo corto y, principalmente, en fechas de siembra tempranas (Cuniberti *et al.*, 2004; Parra, 2005; Fuentes y Suárez, 2006). Para Cuniberti *et al.* (2004), el aumento de granos verdes en la cosecha nacional de soja se debió a la difusión de la soja de primavera en la zona pampeana norte. En la campaña 2004/05, las regiones más problemáticas fueron todo el NOA, norte de Córdoba y parte del NEA. Para la región centro-norte de la provincia de Santa Fe se encontró un valor de 39% de lotes con grano verde con un promedio de 7% de presencia (Bragachini, 2005). Para la campaña 2008/09, en un relevamiento realizado en acopios del SO santafesino, S de Santa Fe, SE, SO, y NE de Córdoba y N de la provincia de Buenos Aires, Cuniberti *et al.* (2009) encontraron un porcentaje promedio de GV de 9,3% y 8,3%, para soja de primera y de segunda, respectivamente, y su presencia fue registrada en un alto porcentaje de las muestras (69 y 60%, para soja de primera y de segunda, respectivamente), siendo los porcentajes de GV hallados en esta campaña mayores a los registrados en las precedentes (Figura 1.5).

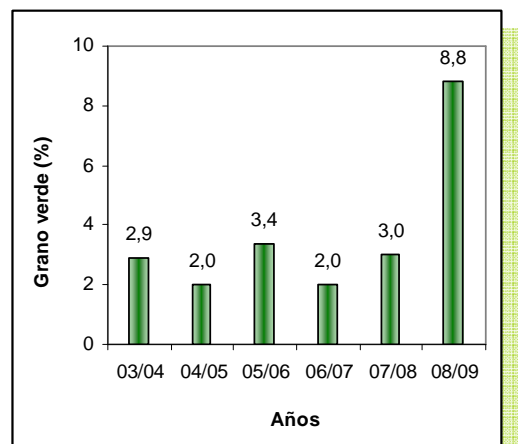


Figura 1.5: Porcentaje de grano verde en las campañas 2003/04 a 2008/09. Región sojera dada por el SO santafesino, S de Santa Fe, SE, SO, y NE de Córdoba y N de Buenos Aires. Tomado de Cuniberti *et al.*, 2009.

Algunas evidencias han llevado a sugerir que la presencia de grano verde se asocia con el hecho de que parte del ciclo del cultivo coincida con temperaturas altas (Cuniberti *et al.*, 2004). En este sentido, la mayor presencia de GV en las fechas de siembra tempranas de cultivares precoces se explicaría por haber expuesto la fase de crecimiento de los granos R5 – R7 (inicio de crecimiento de la semilla – madurez fisiológica; Fehr y Caviness, 1977) a ambientes de elevadas temperaturas.

En Rafaela, las siembras tempranas de soja pueden realizarse desde la segunda quincena de septiembre y hasta la segunda quincena de octubre. El empleo de estas fechas de siembra, con el uso de sojas de grupos de maduración cortos (III y IV) sitúa el período de crecimiento de los granos durante enero y principios de febrero (Villar y Cencig, 2005, 2006, 2008a y 2009; Villar *et al.*, 2010).

Si se considera el período a partir de 1980, en el que se dio la mayor expansión de soja en Argentina (da Veiga, 2005), con la aparición de grano verde en los últimos 10 años de la serie, puede apreciarse que la temperatura media del mes de enero ha presentado para Rafaela una tendencia creciente (Figura 1.6), por lo que puede pensarse que la temperatura desempeña un rol importante en la aparición de la anomalía.

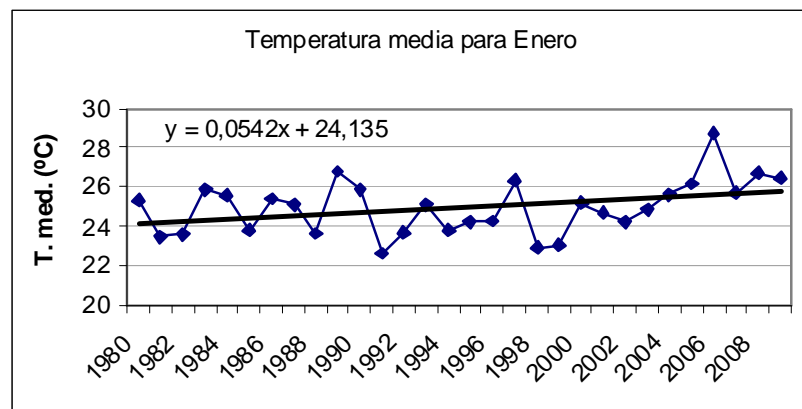


Figura 1.6: Temperatura media del mes de Enero y su tendencia, para el período 1980-2009. Elaborado a partir de datos de la Estación Agro meteorológica del INTA Rafaela.

Por el contrario, otras evidencias sugieren que existen factores diferentes a la temperatura que pueden estar involucrados en la presencia de granos verdes a madurez del cultivo. Al respecto, França Neto *et al.* (2005) mencionaron que la predisposición del cultivo de soja a presentar elevados porcentajes de GV, se incrementa en respuesta a condiciones de estrés ocasionadas por: i) enfermedades de raíz, del tallo o de hojas, ii) un intenso ataque de insectos, especialmente chinches, iii) el déficit hídrico durante las fases finales del crecimiento del grano, principalmente asociado a elevadas temperaturas o heladas tempranas que ocasionan la muerte prematura de la planta o su maduración anticipada. Los mismos autores señalaron que un manejo agronómico deficiente podría resultar también en la producción de granos verdes; por ejemplo, una distribución inadecuada de fertilizantes que podría ocasionar problemas de maduración desuniforme o una inoportuna aplicación de desecantes para adelantar la cosecha.

La intensidad con la que ocurre la aparición de semilla verde en un lote (%GV) es variable en función del tipo, de la intensidad y del momento en que sucede el estrés que produciría la muerte prematura o maduración anticipada de la planta, combinada

con una susceptibilidad genética diferencial entre cultivares (França Neto *et al.*, 2005). Sin embargo, la pigmentación verde de las semillas se ha evidenciado en situaciones en las que no se produjo en el campo la anomalía de la maduración, ni la aparición de pedúnculos verdes (Zorato y Watanabe, 2006).

A pesar de los indicios mencionados más arriba, no se encontraron en la bibliografía trabajos que confronten fehacientemente las condiciones ambientales con la presencia de grano verde en el cultivo de soja en condiciones de campo. Más aún, aunque se presume que la temperatura durante la fase de llenado está involucrada en modular la incidencia de GV, se desconoce si los efectos están asociados a los períodos tempranos del llenado, cuando predominan los eventos de formación de los granos, a la fase de crecimiento intermedia, o a las fases finales en las que se degrada la clorofila y se alcanza la madurez. Con esta tesis se aspira a aportar conocimientos que permitan desarrollar estrategias de manejo adecuadas para reducir la ocurrencia del grano verde en soja, involucrando la elección del genotipo y de la fecha de siembra. Asimismo, se pretende establecer el efecto que esta anomalía produce sobre la calidad de lotes de semilla, evaluando particularmente la capacidad del lote de mantener alto vigor y germinabilidad durante el almacenaje.

## 1.2. HIPÓTESIS

- 1.2.1. La presencia de grano verde en soja está asociada a que ocurran elevadas temperaturas coincidentes con las etapas finales de la formación del grano.
- 1.2.2. La presencia de grano verde en soja reduce la longevidad potencial de la semilla y disminuye su almacenabilidad para ser utilizada como simiente.

## 1.3. OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de este trabajo es producir conocimientos que contribuyan a desarrollar estrategias de manejo (desde la elección de la fecha de siembra y el genotipo, hasta el manejo post-cosecha) adecuadas para reducir la incidencia de granos verdes en los sistemas de producción de soja, sobre la base de la identificación de las condiciones ambientales que determinan su aparición.

## 1.4. OBJETIVOS PARTICULARES

- 1.4.1. Evaluar la asociación entre el estrés térmico por alta temperatura diaria, solo o combinado con estrés hídrico, y la producción de grano verde en soja en condiciones de campo.
- 1.4.2. Evaluar la expresión de grano verde en cultivares de soja con diferente ciclo sembrados en distintas épocas de siembra.
- 1.4.3. Identificar el momento del desarrollo del grano en el cual un estrés por elevada temperatura sería crítica en la determinación de grano verde.
- 1.4.4. Determinar si la presencia de grano verde afecta el tiempo de almacenaje del lote de semillas. En particular establecer una relación cuantitativa entre el porcentaje de grano verde y la longevidad potencial (**Ki**) del lote de semillas.

## CAPÍTULO 2

### PRESENCIA DE GRANO VERDE EN SOJA EN CONDICIONES DE PRODUCCIÓN.

#### 2.1. INTRODUCCIÓN

La maduración anticipada de los granos provocada por una muerte prematura de la planta de soja, ha sido atribuida al clima caluroso y seco durante el último período de maduración del grano. Como consecuencia de ello, la actividad de la clorofilasa es interrumpida antes de que toda la clorofila sea degradada, produciéndose granos verdes a cosecha (Wielbold, 2009; França-Neto *et al.*, 2005). En este sentido, Mc. Gregor (1991), señala para el cultivo de colza, que los niveles de clorofila presentes en la semilla, son afectados igualmente por el genotipo y por las condiciones ambientales, principalmente la temperatura en el período de maduración del grano.

La maduración del grano, con o sin la degradación de la clorofila, es un proceso que puede ocurrir independientemente de la planta madre y aun aislado el grano de la misma en estadios iniciales durante su proceso de acumulación de materia seca y con contenidos de humedad elevados (67-70%, Adams y Rinne, 1980). Aun así, este proceso requiere de una lenta deshidratación del grano ya que, cuando la tasa de pérdida de agua es elevada, las semillas no pueden sintetizar enzimas de maduración, cesa la actividad de la clorofilasa y, en consecuencia, permanece el color verde disminuyendo su capacidad germinativa (Adams *et al.*, 1983). En este sentido, Sinnecker *et al.* (2005), encontraron que la degradación de la clorofila depende tanto de la temperatura como de la edad de la semilla. Semillas de soja cosechadas entre R6 y R8 (madurez de cosecha) mantenidas dentro de sus vainas intactas, fueron secadas a temperatura ambiente de 25°C, lográndose la degradación casi completa de la clorofila, excepto cuando la cosecha fue en el estado más temprano (R6). En cambio, las semillas sometidas a 40°C mediante estufa con circulación de aire, presentaron altos niveles de clorofila, lo que permite inferir que el proceso de degradación del pigmento fue bloqueado y, aunque gran parte del contenido inicial de clorofila fue transformado a feofitina, la clorofila resultó el pigmento más abundante. Tanto Sinnecker *et al.* (2005) como Gómez *et al.* (2003), señalan que los altos niveles de clorofila remanente en la semilla estarían asociados a la pérdida de agua de manera rápida producida por las altas temperaturas, más que a un efecto directo de la temperatura sobre la actividad metabólica de las semillas. No obstante, no reportaron la existencia de tasas de desecamiento diferentes entre regímenes térmicos. Por lo tanto, y considerando que las altas temperaturas no aceleran la pérdida de agua de los granos en girasol (Rondanini *et al.*, 2007), los verdaderos mecanismos que vinculan las altas temperaturas con la degradación de la clorofila deben aún clarificarse.

En nuestro país, Astegiano *et al.* (2006), empleando metodologías similares, encontraron que el incremento de la temperatura aumentó la velocidad de evaporación de agua de las vainas de todos los cultivares de soja, pero con una respuesta variable en función del genotipo. Además, disminuyó la capacidad de degradación de la clorofila en los granos, observándose también respuestas diferentes entre genotipos.

Para Zorato y Watanabe (2006), la retención de clorofila en los granos de soja está sujeta a modificaciones conjuntas de varios factores ambientales. Estos autores mencionan que los cultivos frecuentemente son afectados por estrés hídrico, asociados a

elevadas temperaturas y a alta radiación en la fase R6-R7, que es cuando ocurre normalmente la degradación de la clorofila (Sinnecker *et al.*, 2005). Pero estas relaciones empíricas no han sido debidamente corroboradas sobre la base de experimentos manipulativos realizados a campo.

Las evidencias encontradas en la bibliografía sugieren entonces, la posibilidad de que el GV pueda producirse por una situación de estrés térmico ocurrido durante el período de llenado de granos. La hipertermia podría provocar una muerte repentina de las plantas, antes de que ocurra su normal maduración. Asimismo, la desecación violenta de la semilla debido a las altas temperaturas, inhibiría la actividad de la enzima responsable de descomponer a la clorofila por lo que no sería posible su completa degradación, permaneciendo las semillas de color verde. Sin embargo, estas posibilidades no han sido aún corroboradas con datos reales en lotes de producción.

## 2.2. OBJETIVOS

- 2.2.1. Evaluar la asociación entre el estrés térmico por alta temperatura diaria, solo o combinado con estrés hídrico, y la producción de grano verde en soja en condiciones de campo.
- 2.2.2. Evaluar la expresión de grano verde en cultivares de soja con diferente ciclo sembrados en distintas épocas de siembra.

## 2.3. MATERIALES Y MÉTODOS

Durante las campañas 2004/05 a 2008/09, se realizaron ensayos a campo sembrados en diferentes fechas, dentro del rango posible para el centro de Santa Fe (Cuadro 2.1).

Cuadro 2.1: Fechas de siembra (FS) de soja. Campañas 2004/05 a 2008/09.

campaña	FS						
	SEP 2	OCT 1	OCT 2	NOV 1	NOV 2	DIC 1	DIC 2
2004/05	16-sep	5-oct	25-oct	15-nov		6-dic	
2005/06			27-oct	10-nov	28-nov	14-dic	28-dic
2006/07				6-nov	22-nov	7-dic	29-dic
2007/08			26-oct	13-nov		5-dic	18-dic
2008/09			22-oct	14-nov		4-dic	29-dic

Se incluyeron cultivares comerciales de soja (Cuadro 2.2), pertenecientes a diferentes grupos de madurez (GM), de modo de generar un escalonamiento de la etapa de maduración de los granos y abarcar el mayor período posible dentro de la temporada de desarrollo del cultivo (Figura 2.1).



Cuadro 2.2: Cultivares de soja por grupo de maduración (GM) y por campaña.

GM	2004/05	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09
III	DM3100	DM3100	DM3100	DM3100	DM3700
	DM3700	DM3700	DM3700	DM3700	
IV corto	DM4200	DM4200	DM4200	DM4200	DM4250
	DM4600	DM4600	DM4600	DM4600	
IV largo	DM4870	DM4870	DM4870	DM4870	DM4970
V	TJ2055	TJ2055	A5766	A5766	
			RA514	RA514	RA514
VI	A6411	A6411	A6411	A6411	A6411
			Nva And 66	Nva And 66	
VII	A7636	A7636	A7636	TJS2170	
			A7321	A7321	A7321



Figura 2.1: Vista panorámica del ensayo correspondiente a la segunda fecha de siembra, campaña 2008/09. Nota: la imagen muestra distintos cultivares en diferentes momentos de su ciclo.

En la imagen de la Figura 2.1 se aprecia como los cultivares de soja de diferentes GM presentaban diferente grado de senescencia foliar, evidenciando los diferentes estados en que se encontraba cada uno en un momento dado. Para todas las campañas, el diseño experimental fue de bloques completos al azar con tres repeticiones. Las parcelas constaban de 4 surcos de 5 m de longitud, distanciados a 0,52 m (10,4 m<sup>2</sup>). Los ensayos se realizaron en condiciones de secano, aplicándose los cuidados culturales que aseguraron que el cultivo se encontrara libre de malezas y de daños por insectos y/o enfermedades.

Se registraron los estados fenológicos de VE, R1, R3, R5, R6, R7 y R8 (Fehr y Caviness, 1977) mediante observaciones realizadas en forma periódica cada 2 o 3 días. La cosecha se realizó en forma mecánica sobre 3 surcos por 5 m de largo (7,8 m<sup>2</sup>) con una cosechadora de parcelas Wintersteiger.



Posterior a la cosecha, sobre una muestra de 100g por parcela, se evaluó el contenido de granos verdes (GV). Para ello, se consideraron como GV los que presentaban externamente cualquier intensidad de color verde, total o parcial, expresándose los resultados como %GV según lo establecido en la “Norma de Calidad para la comercialización de Soja, Norma XVII”, del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria”.

Los %GV se analizaron por ANOVA y las medias comparadas por el test de Scott y Knott con un  $\alpha=0,05$ . En ambos casos los valores de %GV fueron transformados a su raíz cuadrada. Para cada campaña y FS, las fuentes de variación del modelo del ANOVA fueron el cultivar y el bloque. Para explicar la contribución de ambas fuentes de variación, fechas de siembra y cultivar, en la manifestación de GV, se realizó el análisis de variancia y la interacción genotipo-ambiente. En este análisis, el ANOVA tuvo como fuentes variación al cultivar, al ambiente (quincena de siembra) y la interacción entre ambas (cultivar x ambiente). La interacción entre cultivar y ambiente se analizó con el modelo de los efectos aditivos principales e interacciones multiplicativas o AMMI (Gauch, 1992). Los análisis se efectuaron utilizando el paquete estadístico Info-Gen/P (Balzarini *et al.*, 2009).

Se obtuvieron datos de temperatura a partir de registros diarios de temperatura media (como promedio de tres observaciones: 8, 14 y 20 h), temperatura máxima y mínima de la Estación Agrometeorológica de la EEA Rafaela.

Además, se efectuaron las estimaciones del balance hídrico (BH) para cada tratamiento (cultivar x FS). Para ello, al inicio de las campañas 2004/05, 2005/06 y 2006/07, se determinó el contenido de agua útil (AU) en el suelo por gravimetría mediante un muestreo hasta 1,5 m de profundidad y para las campañas 2007/08 y 2008/09, se realizaron muestreos de humedad adicionales (Cuadro 2.3). Se tuvieron en cuenta además, los supuestos de precipitación efectiva igual al 50%, evolución del kc con valores de 0,2, 0,8, 1,05 y 1, para las fases fenológicas de E, E-R1, R1-R5 y R5-R7, respectivamente, y una profundización efectiva de las raíces de un máximo de 150 cm. Estos parámetros fueron ajustados a partir de experiencias realizadas en la EEA Rafaela durante varios años (J. Villar Ezcurra, comunicación personal). El contenido de AU se dividió en dos capas de suelo (primeros 26 y siguientes 124 cm). El método para estimar la evapotranspiración potencial del cultivo fue el propuesto por Penman-Monteith (Monteith, 1965).

Cuadro 2.3: Fechas de muestreo del contenido de agua útil (AU), campañas 2004/05 a 2008/09.

Campaña	Fecha
2004/05	01/09/04
2005/06	11/11/05
2006/07	23/10/06
2007/08	28/09/07
	13/11/07
	07/12/07
2008/09	07/10/08
	04/11/08

Luego de obtenidos los BH para cada cultivar, FS y campaña, se graficaron los déficits hídricos durante el llenado de los granos como la diferencia entre la evapotranspiración máxima (ETm) y la evapotranspiración del cultivo (ETc).

Las variables ambientales (temperatura y déficit hídrico) fueron asociadas a la presencia de grano verde mediante correlaciones y análisis de regresión lineal, efectuados con el *software* estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2009). Finalmente, para comprender hasta qué punto las altas temperaturas necesitan ser complementadas por déficits hídricos para producir GV, se realizaron regresiones considerando genotipos comunes de las campañas donde el GV estuvo presente. Para ello, primero se estableció un umbral de déficit hídrico durante el llenado de granos y luego un umbral de temperatura.

## 2.4. RESULTADOS

Los %GV fueron diferentes entre campañas. Mientras que en la campaña 2004/05 y 2005/06 algunos tratamientos (cultivar x FS) registraron valores superiores a la tolerancia de recibo, en las 2006/07 y 2008/09, salvo una excepción, estuvieron por debajo, y en la campaña 2007/08 no se detectó presencia de GV. Estas campañas difirieron particularmente en la marcha térmica y en el volumen y distribución de las precipitaciones generando diferentes momentos de ocurrencia de déficits hídricos, de acuerdo al cultivar y FS. La asociación entre los %GV y las variables climáticas mostró una asociación positiva para algunos períodos dentro de la etapa de llenado de granos.

### 2.4.1. Evaluación fenológica

Las fechas de los estados fenológicos R1, R3, R5, R6, R7 y R8 de todos los genotipos participantes de las cinco campañas se presentan en cuadros en el Apéndice II. En la campaña 2004/05, la etapa de llenado de granos (R5 – R7) había culminado a principios de febrero para los GM precoces (III, IV y V) y para las FS tempranas, mientras que los más largos se encontraban en pleno llenado de granos. De la misma manera, en la campaña 2005/06, dicha etapa, para los cultivares de los GM III y IV, se ubicó enteramente en los meses de enero y febrero, a los que se agregó TJ2055 (GM V) y para los GM más largos, una proporción creciente del llenado de granos se dio en marzo.

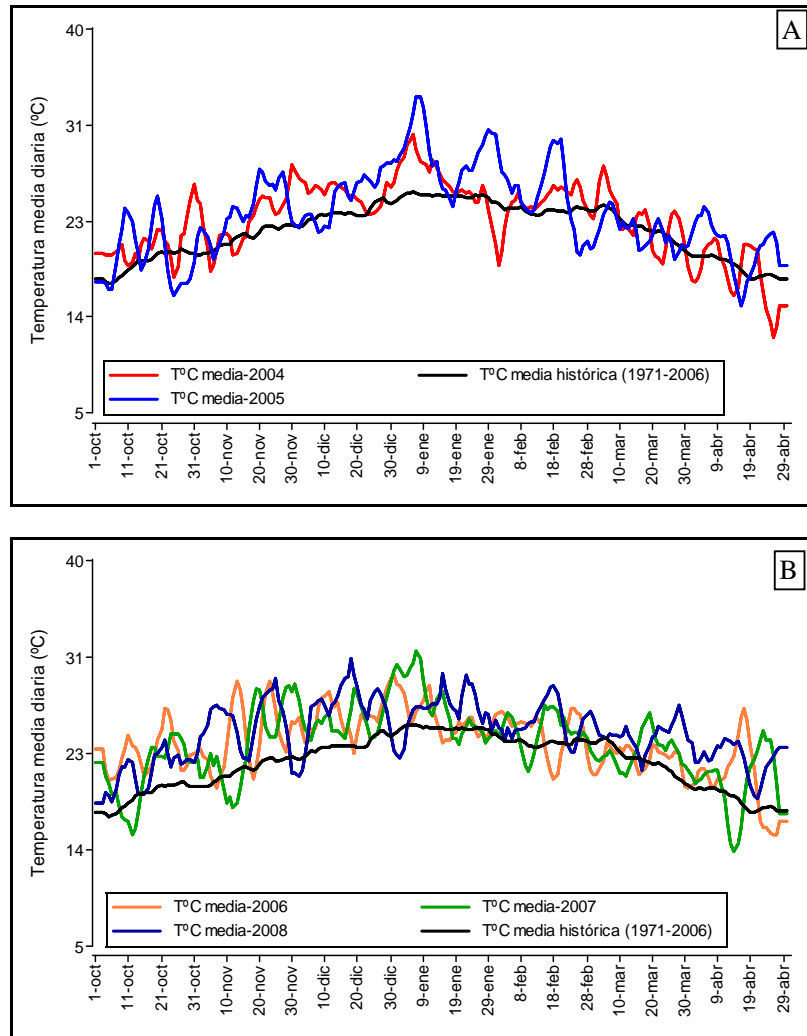
Por el contrario, durante la campaña 2006/07, la etapa R5-R7 se inició a partir de finales de enero, producto del comienzo de las siembras realizadas más tardíamente. Nuevamente, en las campañas 2007/08 y 2008/09, las etapas de llenado se ubicaron durante enero y principios de febrero, en los materiales de ciclos más cortos y en fechas de siembras más tempranas.

### 2.4.2. Caracterización ambiental

Las temperaturas medias en la campaña 2004/05 fueron superiores a las de la serie histórica durante la primera quincena de noviembre y de diciembre (Figura 2.2 A). El pico de temperatura media se dio el 29/01/05, siendo de 31,5°C, valor que se correspondió con una temperatura máxima de 37,6°C y una mínima de 21,5°C.

En la campaña 2005/2006 (Figura 2.2 A), las temperaturas mostraron tres períodos con registros medios diarios superiores a los de la serie histórica (27/12-13/01, 20/01-5/02 y 13/02-21/02), el primero con el valor más elevado de temperatura media (36,1°C) y junto con el segundo, ambos fundamentalmente dentro del mes de enero, determinaron una temperatura promedio para ese mes 2,5°C superior a la de la serie

histórica. A partir del 21/02 la situación térmica se moderó, incluso con registros ligeramente inferiores a los históricos.



**Figura 2.2:** Temperatura media diaria para cada campaña (promedios móviles cada 5 días) para las campañas 2004/05 y 2005/06 (A) y 2006/07, 2007/08 y 2008/09 (B). La curva negra indica temperatura media histórica (1971-2006). Datos de la Estación Agrometeorológica del INTA Rafaela.

Durante las campañas 2006/2007 y 2007/08 (Figura 2.2 B), los registros térmicos fluctuaron por encima de la serie histórica hasta mediados de enero. A partir de ese momento la situación térmica se moderó (i.e. las temperaturas se mantuvieron cercanas e inferiores a los valores históricos, para la primera y segunda campaña, respectivamente). Por su parte, la campaña 2008/09 tuvo temperaturas con valores medios diarios que fluctuaron por encima de la serie histórica para todo el ciclo de crecimiento.

En cuanto a las precipitaciones, hubo diferencias tanto en cantidad como en distribución (Figura 2.3). Esto determinó que los contenidos de agua útil fueran diferentes para el inicio de cada campaña (Cuadro 2.4) y además, que los períodos donde se produjeron insuficiencias hídricas difirieran entre años y fechas de siembra (Figuras 2.4 a 2.7).

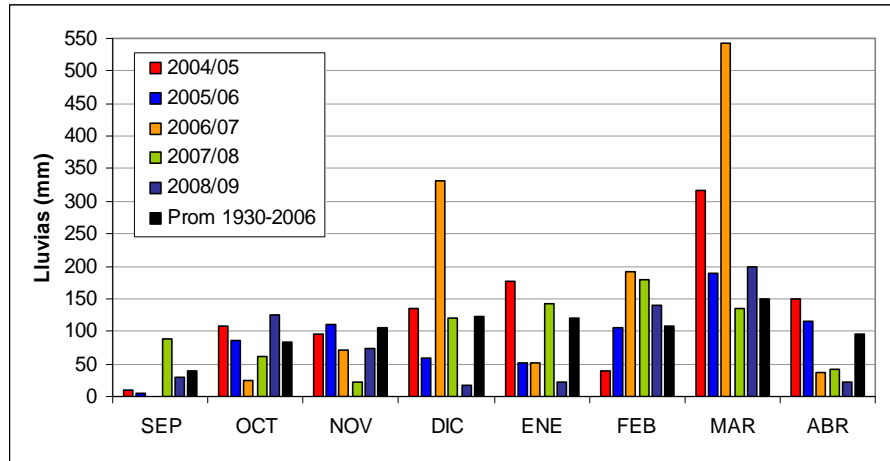


Figura 2.3: Lluvias mensuales período Septiembre – Abril en 5 campañas y promedio histórico (1930-2006). Datos de la Estación Agrometeorológica de la EEA Rafaela.

Cuadro 2.4: Fechas de muestreo y contenido de agua útil (AU), campañas 2004/05 a 2008/09.

Campaña	fecha	AU (mm/1,5 m)	Clasificación (*)
2004/05	01/09/04	107	Déficit moderado
2005/06	11/11/05	143	Adecuado
2006/07	23/10/06	150	Adecuado
2007/08	28/09/07	244	Excesivo
	13/11/07	194	Muy favorable
	07/12/07	177	Adecuado
2008/09	07/10/08	107	Déficit moderado
	04/11/08	115	Déficit moderado

(\*) Tomado de: Villar, J. (2009).

En la campaña 2004/2005, las precipitaciones fueron muy inferiores a la serie histórica en septiembre y luego estuvieron en valores cercanos o superiores a la serie hasta febrero, que fue el mes de mayor déficit, completándose la campaña con lluvias muy abundantes. Sumado a esto, como ya fuera mencionado hubo temperaturas medias diarias superiores a las de la serie en la primera quincena de enero, lo que contribuyó a magnificar el estrés. Un ejemplo de ello se muestra en la Figura 2.4.

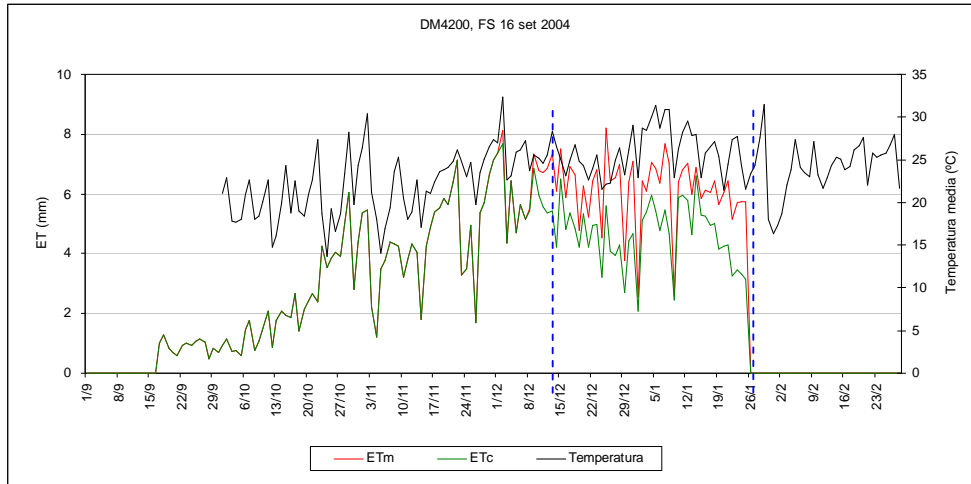
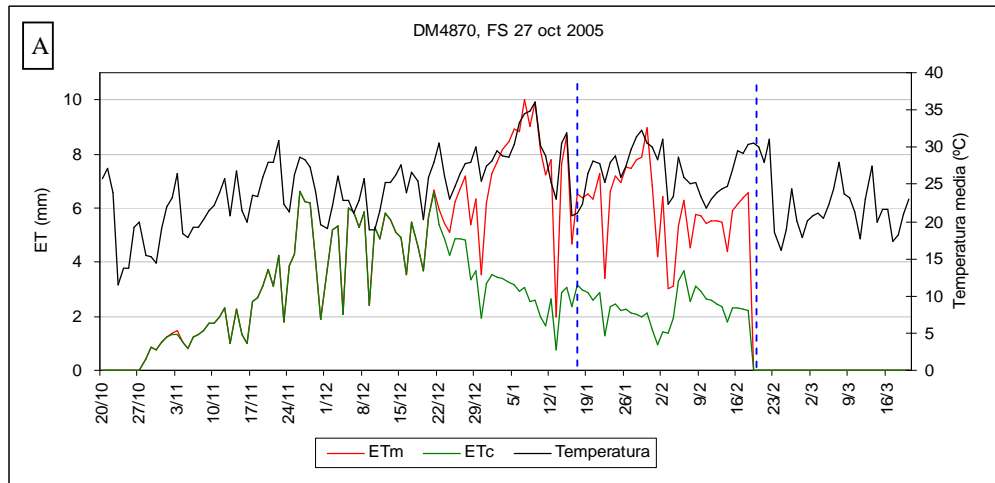
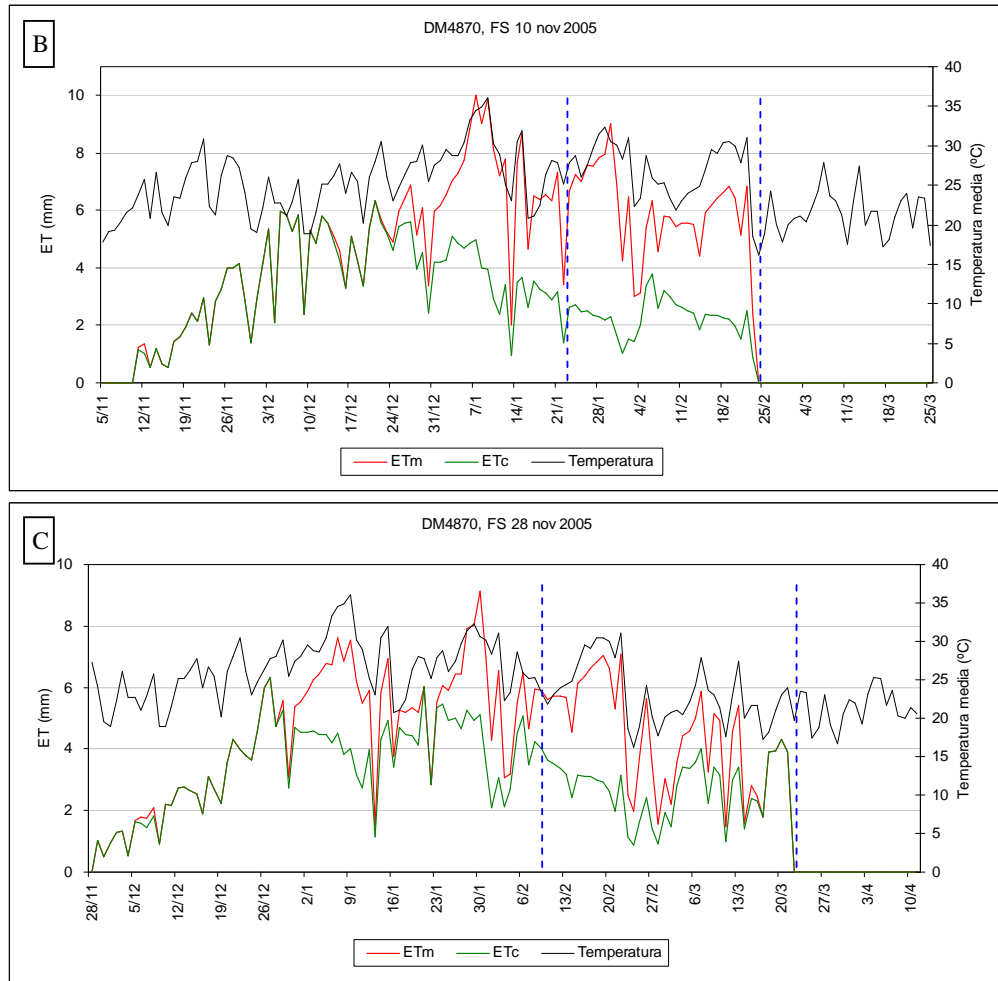


Figura 2.4: Balance hídrico diario para soja DM4200, Rafaela, fecha de siembra 16 de septiembre de 2004. ETm: evapotranspiración máxima (Penman-Monteith), ETc: evapotranspiración del cultivo. Líneas verticales muestran el inicio (R5) y el fin (R7) del período del llenado de granos.

Para la campaña 2005/2006, en octubre y noviembre, la oferta de lluvias fue similar a los valores históricos, a partir de diciembre y durante enero el déficit de lluvia fue muy intenso, representando menos del 50% de lo esperado. En la última etapa (marzo-mayo) la suma de lluvias fue favorable, reduciéndose la oferta de ellas hacia el final, cuando los requerimientos de los cultivos son menores. Los balances hídricos estimados mostraron que durante enero y hasta mediados de febrero se dio el mayor estrés del cultivo (Figura 2.5).





**Figura 2.5:** Balance hídrico diario para soja DM4870 con fecha de siembra 27 de octubre (A), 10 de noviembre (B) y 28 de noviembre (C) de 2005, en Rafaela. ETm: evapotranspiración máxima (Penman-Monteith), ETc: evapotranspiración del cultivo. Líneas verticales muestran el inicio (R5) y el fin (R7) del período del llenado de granos.

En la campaña 2006/07, la oferta total de lluvias fue abundante en el inicio, deficitaria durante enero y hasta mediados de febrero, para luego ser muy favorable e incluso excesiva en marzo, generando el encharcamiento del ensayo durante períodos prolongados. Los balances hídricos mostraron que tanto los materiales de ciclo más corto (Figura 2.6 A y B), como los más largos (Figura 2.7 A y B), tuvieron demandas satisfechas en parte de la etapa de formación de los granos.

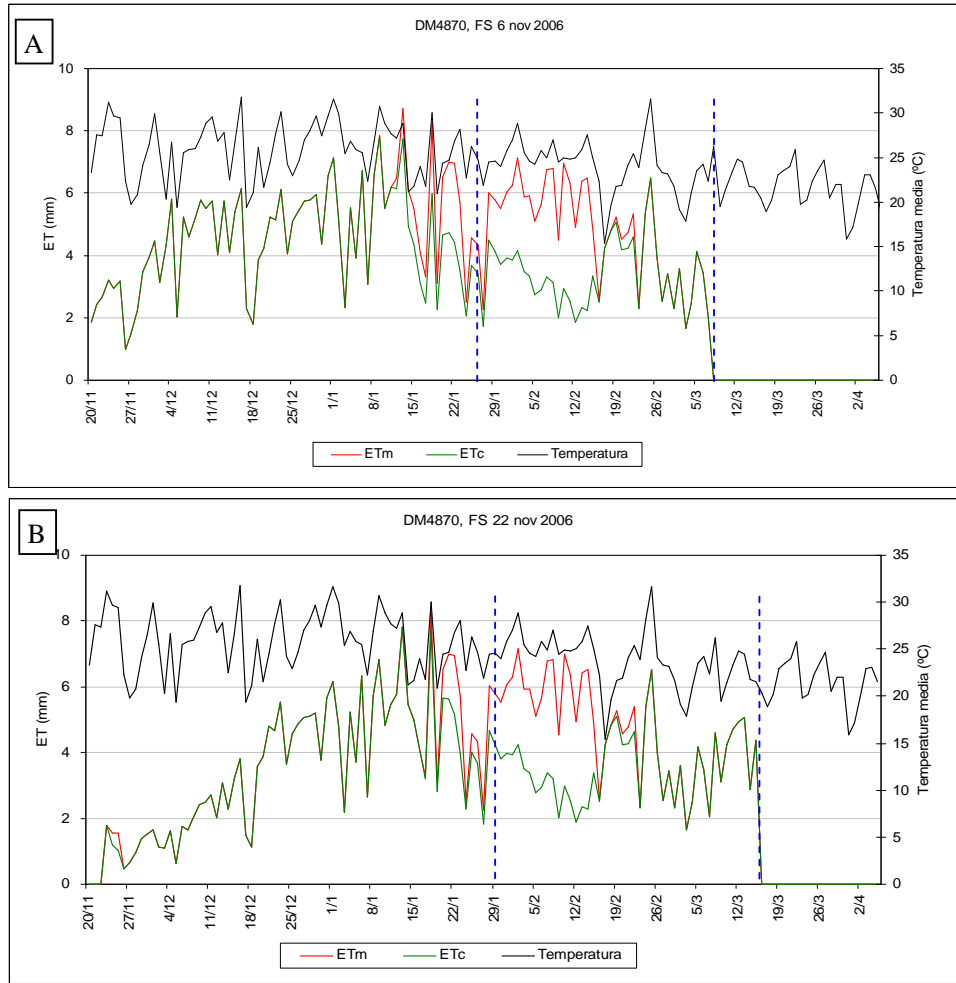
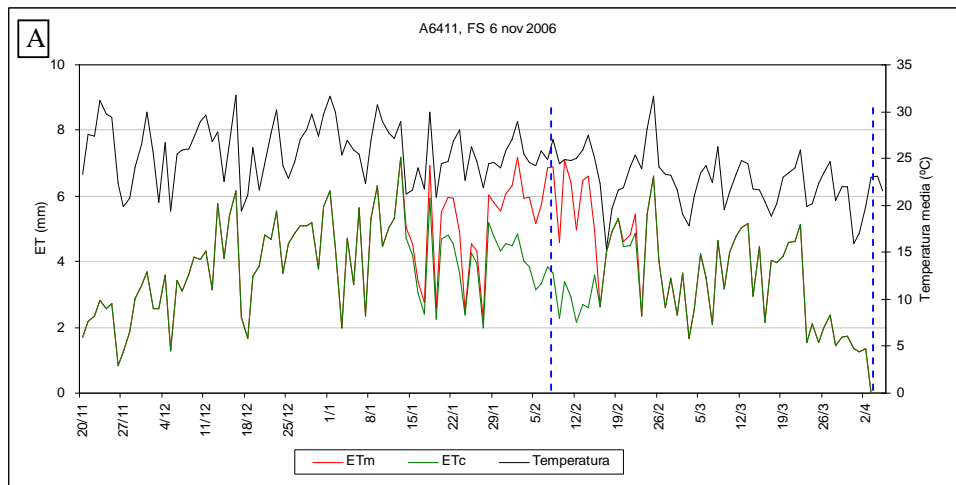


Figura 2.6: Balance hídrico diario para soja DM4870 con fecha de siembra 6 (A) y 22 (B) de noviembre de 2006 en Rafaela. ETm: evapotranspiración máxima (Penman-Monteith), ETc: evapotranspiración del cultivo. Líneas verticales muestran el inicio (R5) y el fin (R7) del período del llenado de granos.



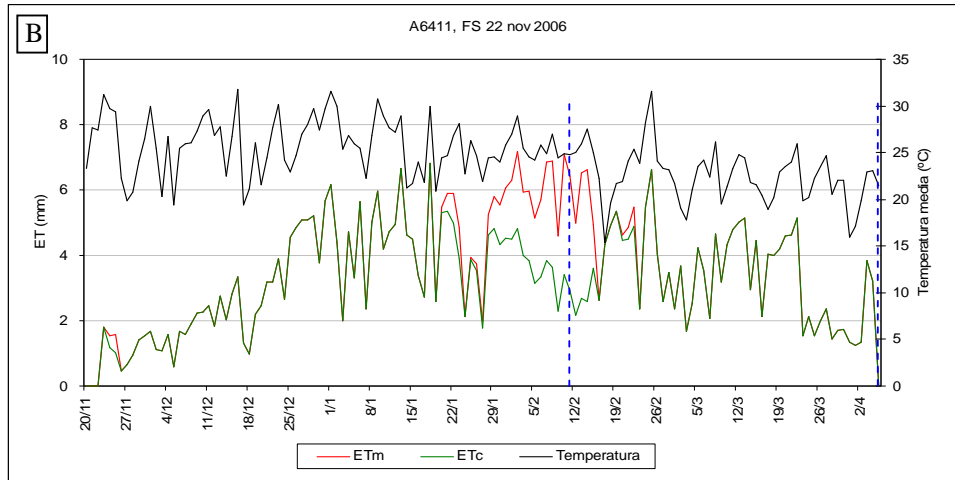
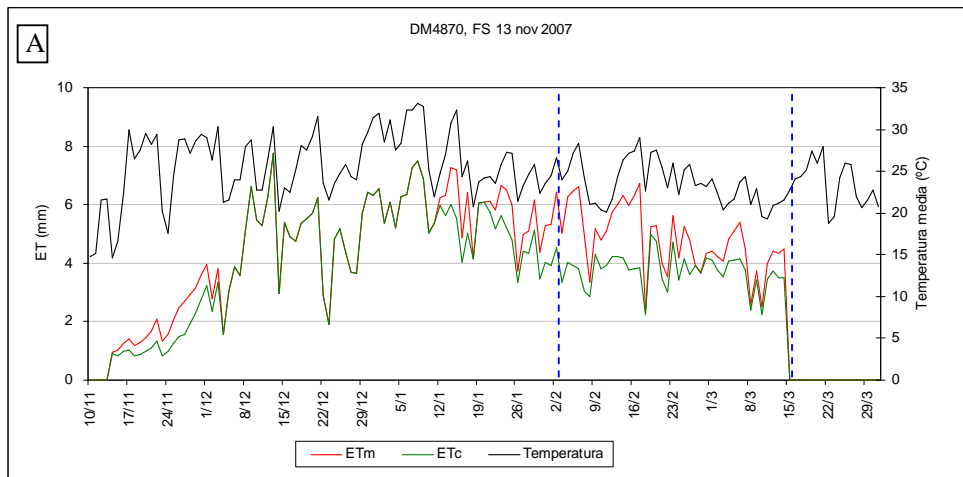


Figura 2.7: Balance hídrico diario para soja A6411 con fecha de siembra del 6 de noviembre (A) y 22 de noviembre (B) de 2006 en Rafaela. ETm: evapotranspiración máxima (Penman-Monteith), ETc: evapotranspiración del cultivo. Líneas verticales muestran el inicio (R5) y el fin (R7) del período del llenado de granos.

La campaña 2007/08 se caracterizó por un inicio con oferta de lluvias muy escasa, pero ampliamente compensada por el agua útil acumulada en el perfil. Entre diciembre y marzo las lluvias acumuladas fueron superiores a los registros normales para la época. Por lo expuesto, los distintos materiales tuvieron una disponibilidad hídrica que permitió suplir sus demandas (Figura 2.8 A y B).





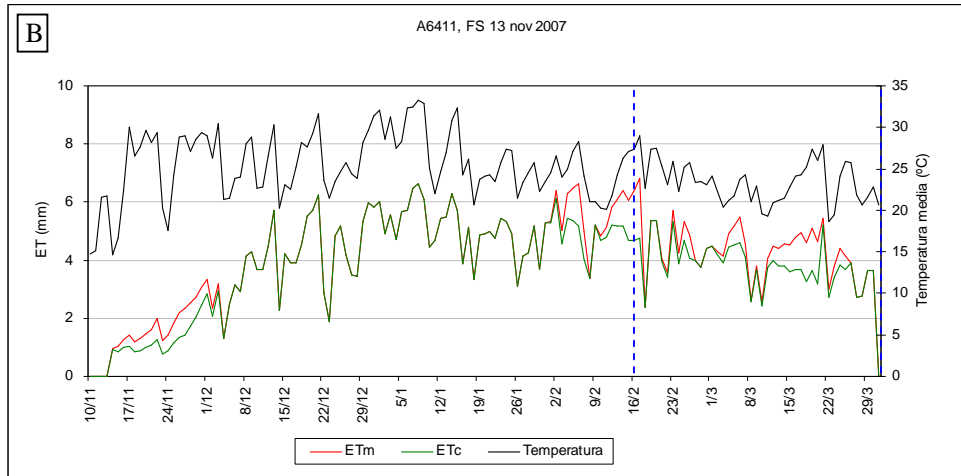
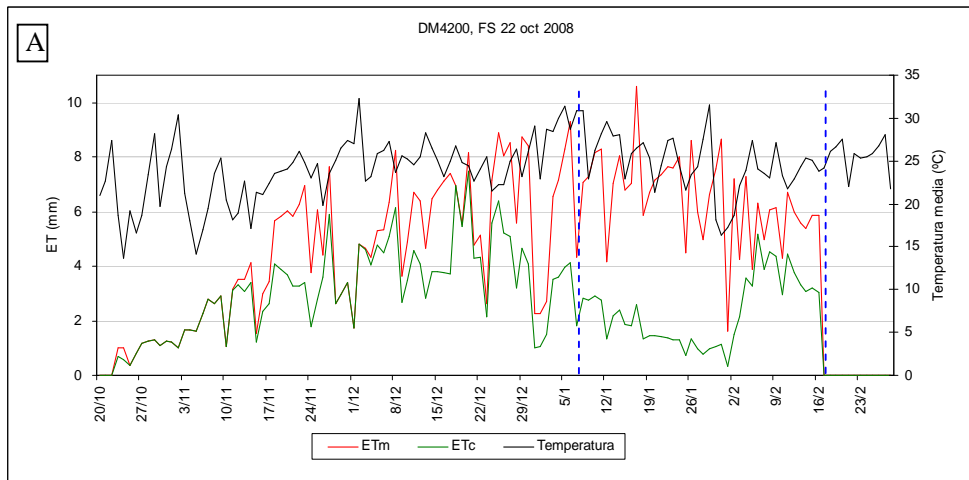


Figura 2.8: Balance hídrico diario para soja sembrada el 13 de noviembre de 2007 en Rafaela: cultivar DM4870 (A) y A6411 (B). ETm: evapotranspiración máxima (Penman-Monteith), ETc: evapotranspiración del cultivo. Líneas verticales muestran el inicio (R5) y el fin (R7) del período del llenado de granos.

Finalmente, en la campaña 2008/09, las lluvias registradas en octubre y noviembre permitieron lograr una adecuada implantación del cultivo, pero a partir de ese momento se inició un período de muy baja oferta de lluvias provocando que la mayoría de los cultivares se encontrasen bajo condiciones estresantes en las etapas reproductivas. Además, como ya fuera mencionado, la escasez de lluvias estuvo acompañada por temperaturas elevadas lo que contribuyó a magnificar la demanda hídrica y por lo tanto, las condiciones de estrés hídrico de las plantas (Figura 2.9 A y B).



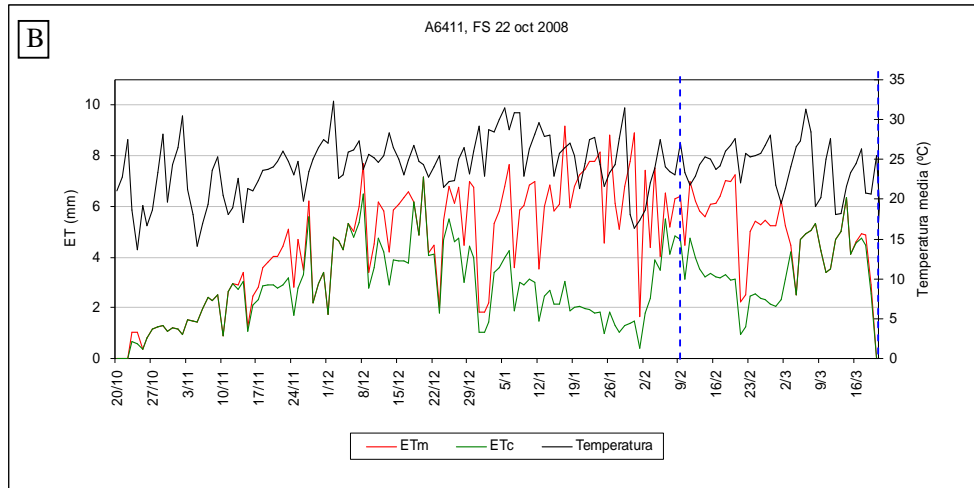
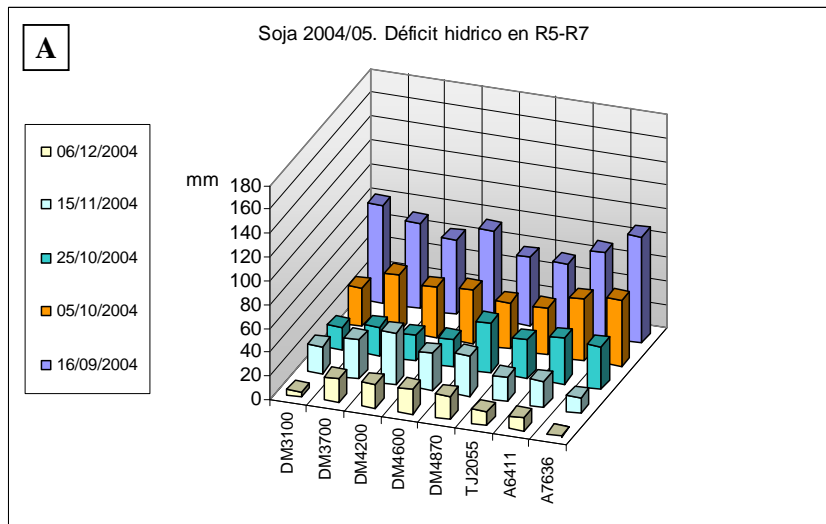
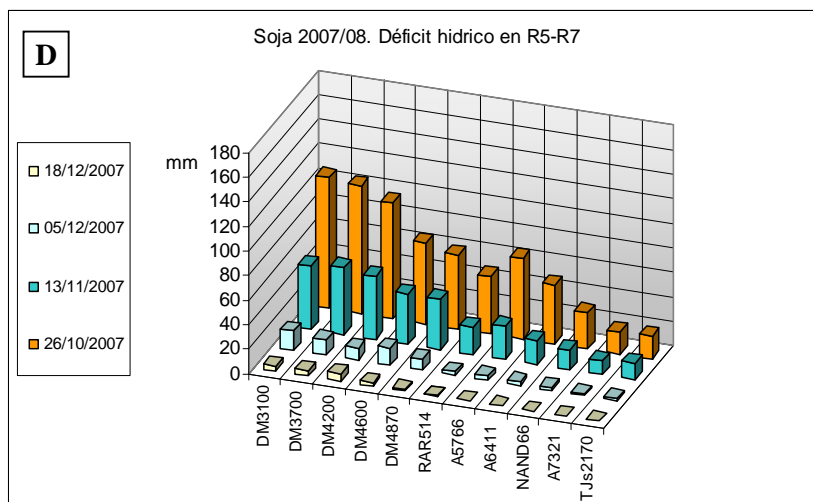
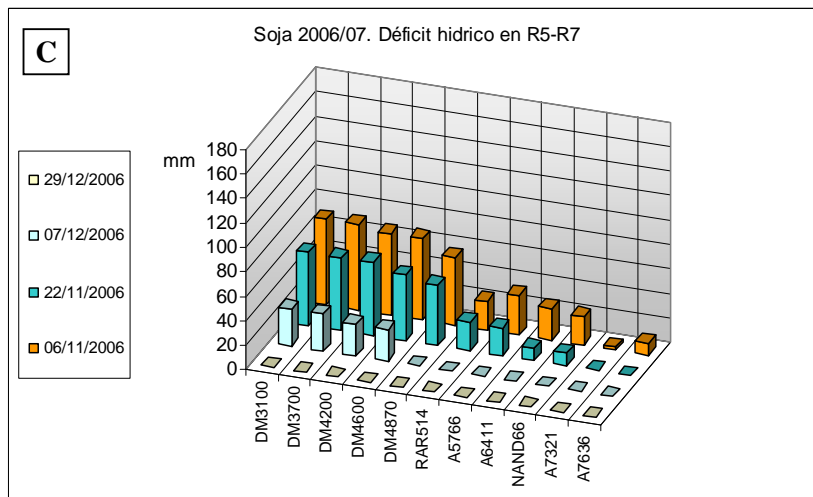
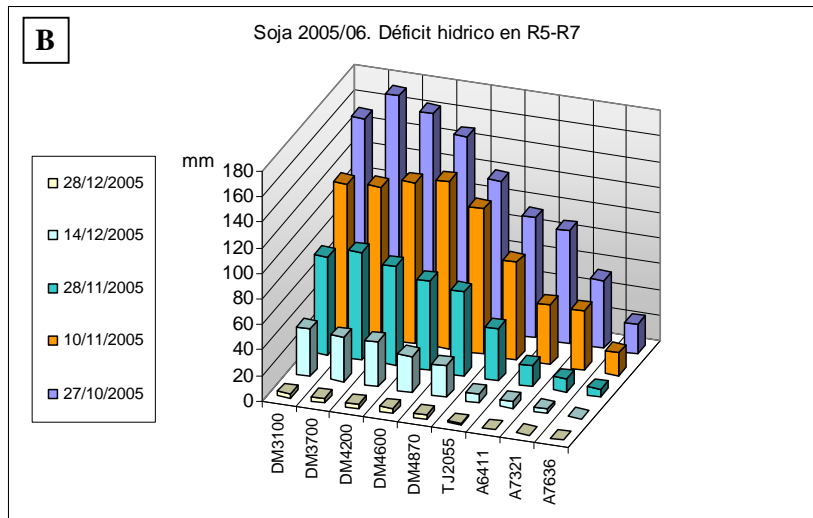


Figura 2.9: Balance hídrico diario para soja sembrada el 22 de octubre de 2008 en Rafaela: cultivar DM4200 (A) y A6411 (B). ETm: evapotranspiración máxima (Penman-Monteith), ETc: evapotranspiración del cultivo. Líneas verticales muestran el inicio (R5) y el fin (R7) del período del llenado de granos.

El análisis de los balances hídricos (BH) para cada cultivar, FS y campaña, demostró que durante el período de llenado de los granos, los cultivares sembrados en 2005 y 2008 presentaron los mayores déficits hídricos, con extremos cercanos a los 180 mm (Figura 2.10). En todas las campañas se pudo apreciar que a medida que se atrasaba la FS disminuían los déficits hídricos de la etapa R5-R7 en todos los materiales. También se apreció que, a excepción de la campaña 2004/05, los materiales de ciclos más largos presentaron estreses menores a 100 mm durante dicha etapa.





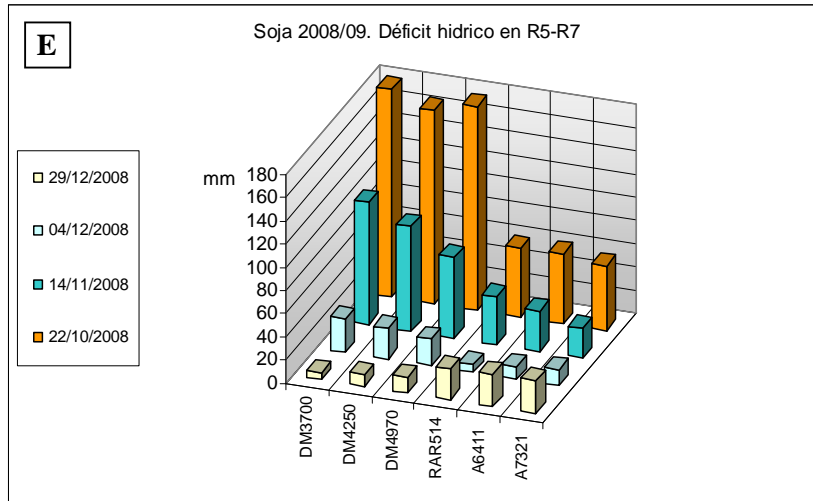
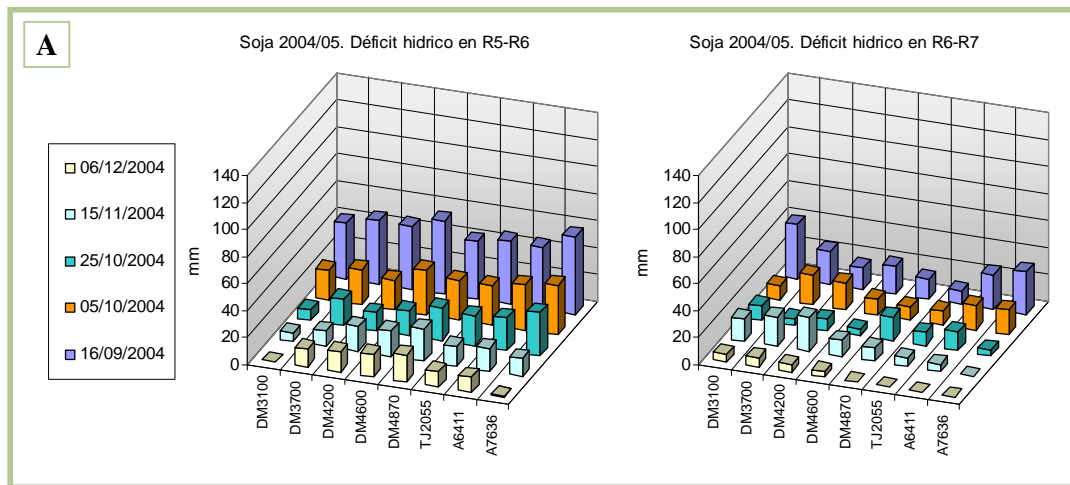
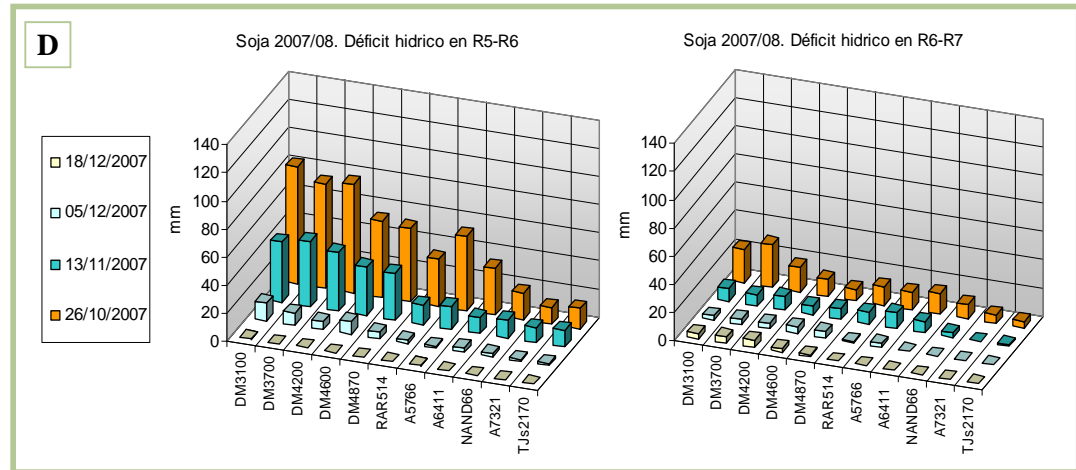
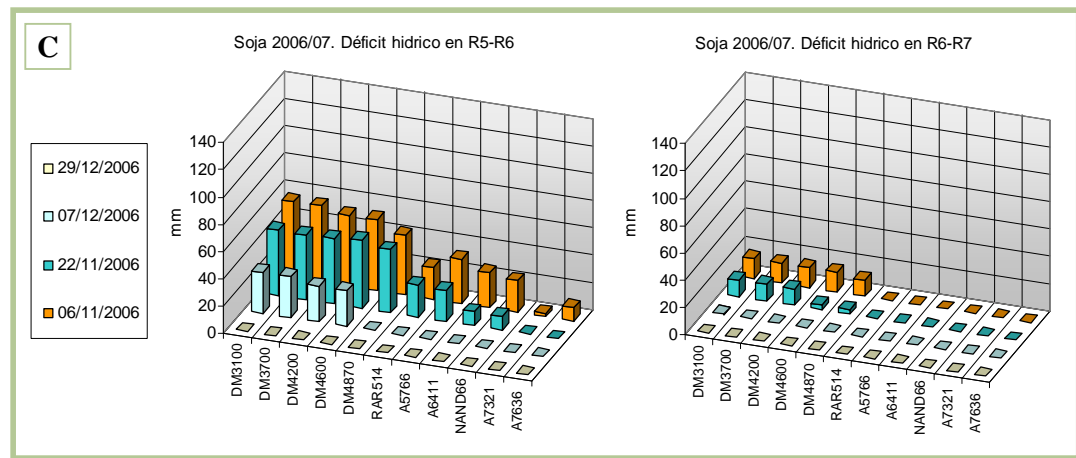
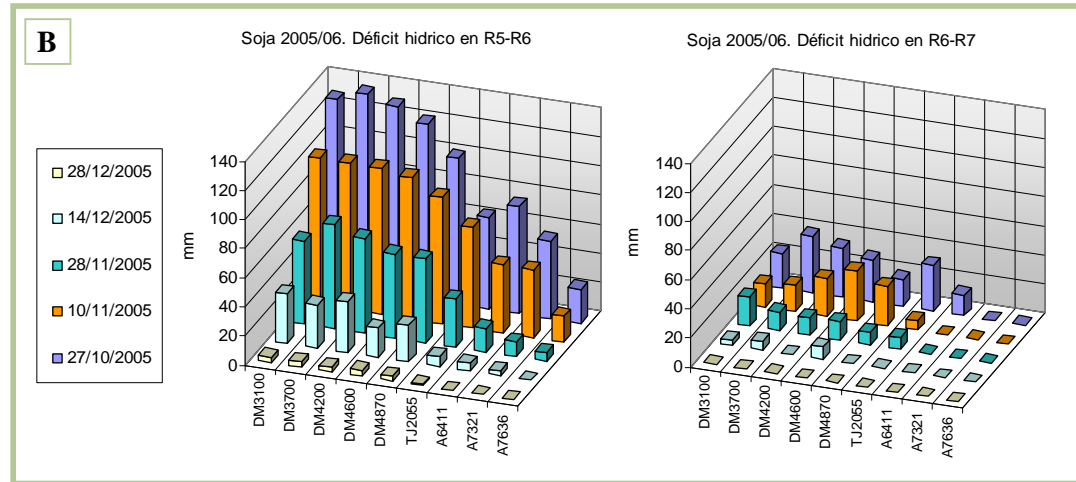


Figura 2.10: Déficit hídrico (mm) de la etapa R5-R7 para cultivares de los GM III a VII, para las campañas 2004/05 (A), 2005/06 (B), 2006/07 (C), 2007/08 (D) y 2008/09 (E).

La subdivisión de la etapa de llenado en dos periodos, R5-R6 y R6-R7, mostró algunas diferencias y algunas similitudes entre años (Figura 2.11). A excepción de la campaña 2004/05, en la mayoría de los casos se observaron mayores valores de déficits hídricos en la etapa R5-R6. La etapa R6-R7 obtuvo valores de déficit elevados en las campañas 2004/05, 2005/06 y 2008/09. Los cultivares sembrados durante diciembre no estuvieron expuestos a estrés durante la etapa R6-R7, exceptuando a la campaña 2008/09.





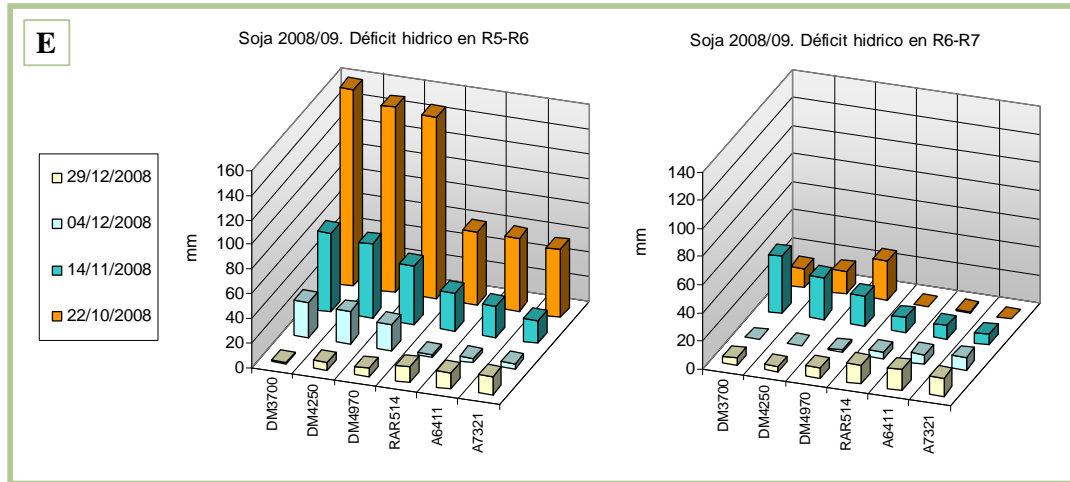


Figura 2.11: Déficit hídrico (mm) de la etapa R5-R6 y R6-R7 para cultivares de GM III a VII, para las campañas 2004/05 (A), 2005/06 (B), 2006/07 (C), 2007/08 (D) y 2008/09 (E).

2.4.3. Presencia de grano verde

En la campaña 2004/05 (Cuadro 2.5), las primeras cuatro fechas de siembra se presentaron niveles de GV superiores a la tolerancia de recibo (10,0 % GV), mientras que en la FS de diciembre todos los valores resultaron inferiores a la base de comercialización (5,0 %GV). El mayor %GV se obtuvo en DM3100 en la tercer FS y DM4200 en la primera y segunda FS. Con valores por encima de la tolerancia, se destacaron DM3100 en la segunda y tercera FS, DM3700 y DM4200 en la primera, segunda y cuarta fecha, DM4600 en la cuarta, DM4870 en la primera y en la cuarta y TJ2055 en la tercera. Los materiales de ciclo más largo (A6411 y A7636) presentaron en todas las fechas, valores de %GV iguales o inferiores a la base de comercialización.

Cuadro 2.5: Presencia de grano verde (%GV) en 5 fechas de siembra (día-mes). Campaña 2004/05, EEA Rafaela.

GM	Variedad	%GV				
		16-sep	5-oct	25-oct	15-nov	6-dic
III corto	DM3100	7,0 b	21,6 a	33,6 a	3,8 b	4,9
III largo	DM3700	21,1 a	22,0 a	7,0 b	24,3 a	0,2
IV corto	DM4200	31,0 a	30,1 a	4,0 c	25,7 a	6,0
IV largo	DM4600	9,1 b	8,2 b	4,5 c	25,8 a	0,2
IV largo	DM4870	14,3 b	8,6 b	9,8 b	13,8 a	0,8
V	TJ2055	2,8 b	3,5 b	10,4 b	2,2 b	0
VI	A6411	5,3 b	4,7 b	2,1 c	0,2 b	0,6
VII	A7636	0,8 b	0,3 b	0,9 c	0,1 b	0,2
Promedio general		11,4	12,4	9,0	12,0	1,6
CV(%)		25,1	25,8	24,1	25,8	*

Letras distintas por columnas indican diferencias significativas. Test: Scott & Knott  $\alpha=0,05$ . \*: Sin ANOVA

En la campaña 2005/06 (Cuadro 2.6), los mayores %GV se presentaron en las dos primeras fechas de siembra y dentro de éstas en los grupos de maduración III (promedios

27,8 y 37,3 %GV, para la primera y segunda FS, respectivamente) y IV (promedios 26,5 y 33,8 %GV, para la primera y segunda FS, respectivamente). Los demás cultivares tuvieron un buen comportamiento en todas las fechas analizadas, mostrando valores inferiores a 4 %, lo cual no ocasionaría inconvenientes en su comercialización.

Cuadro 2.6: Presencia de grano verde (%GV) en 5 fechas de siembra (día-mes). Campaña 2005/06, EEA Rafaela.

GM	Variedad	%GV									
		27-oct		10-nov		28-nov		14-dic		28-dic	
III corto	DM3100	30,3	a	46,0	a	2,3	a	0,1	a	0	a
III largo	DM3700	25,3	a	41,8	a	0	b	0	a	0,8	a
IV corto	DM4200	27,3	a	53,7	a	0	b	0,2	a	0,3	a
IV largo	DM4600	17,6	a	12,9	b	0	b	0	a	0,4	a
IV largo	DM4870	36,8	a	34,9	a	0	b	0,3	a	0,6	a
V	TJ2055	3,8	b	0,2	b	0,5	b	0	a	0	a
VI	A6411	0,1	b	0	b	0	b	0,3	a	0	a
VII	A7636	0	b	0,2	b	0,1	b	0	a	0	a
Promedio general		17,6		23,7		0,4		0,1		0,3	
CV (%)		18,0		29,4		118,8		203,3		156,9	

Letras distintas por columnas indican diferencias significativas. Test: Scott & Knott  $\alpha=0,05$

Por su parte, como se muestra en el Cuadro 2.7, la campaña 2006/07 presentó bajos niveles de GV. En general, la presencia de grano verde fue inferior a la base de comercialización, excepto por DM4870 que presentó un valor por encima de la tolerancia de recibo en la tercera FS.

Cuadro 2.7: Presencia de grano verde (%GV) en cuatro fechas de siembra (día-mes). Campaña 2006/07, EEA Rafaela.

GM	Variedad	%GV							
		6-nov		22-nov		7-dic		29-dic	
III corto	DM3100	0,0	b	0,0	a	0,6	b	1,0	a
III largo	DM3700	0,0	b	0,0	a	3,5	b	0,3	a
IV corto	DM4200	0,0	b	0,2	a	2,0	b	0,6	a
IV largo	DM4600	0,1	b	0,1	a	3,5	b	0,7	a
IV largo	DM4870	0,3	b	0,3	a	10,9	a	0,4	a
V	RA514	3,0	a	1,0	a	0,4	b	0,4	a
V	A5766	3,7	a	0,9	a	0,6	b	0,4	a
VI	A6411	3,4	a	0,5	a	0,2	b	0,4	a
VI	NANDREA66	3,7	a	0,6	a	1,1	b	0,0	a
VII	A7321	2,2	a	0,3	a	0	b	0,2	a
VII	A7636	1,0	b	0,3	a	0	b	0,5	a
Promedio general		1,6		0,4		2,1		0,4	
CV (%)		67,3		93,6		80,2		95,6	

Letras distintas por columnas indican diferencias significativas. Test: Scott & Knott  $\alpha=0,05$

En la campaña 2007/08, no se detectó la presencia de GV en ninguna de las muestras analizadas. Por su parte, en la campaña 2008/09 volvió a ser evidente su presencia (Cuadro 2.8), pero con valores bajos en relación a las dos primeras analizadas.

Cuadro 2.8: Presencia de grano verde (%GV) en cuatro fechas de siembra (día-mes). Campaña 2008/09, EEA Rafaela.

GM	Variedad	%GV							
		22-oct	14-nov	4-dic	29-dic				
III	DM3700	9,3	a	0,3	a	2,9	b	3,2	a
IV corto	DM4250	5,2	a	0,8	a	6,9	a	4,6	a
IV largo	DM4970	7,0	a	2,5	a	10,8	a	2,6	a
V	RA514	1,3	b	0,9	b	1,8	b	3,0	a
VI	A6411	3,6	b	2,5	b	0,8	b	Sd	
VII	A7321	1,5	b	1,5	b	1,1	b	Sd	
Promedio general		4,7		1,4		3,8		2,2	
CV(%)		22,7		13,4		23,5		20,7	

Letras distintas indican diferencias significativas. Test: Scott & Knott  $\alpha=0,05$ . Sd: sin dato

Para el promedio de las campañas (Figura 2.12), la mayor tendencia a presentar GV se observó en las sojas sembradas en fechas tempranas (hasta mediados de noviembre).

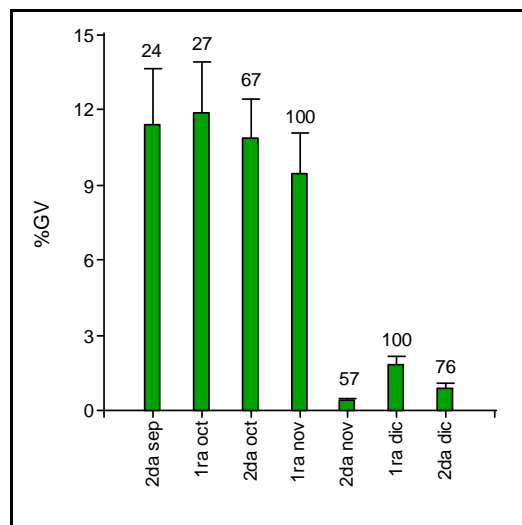
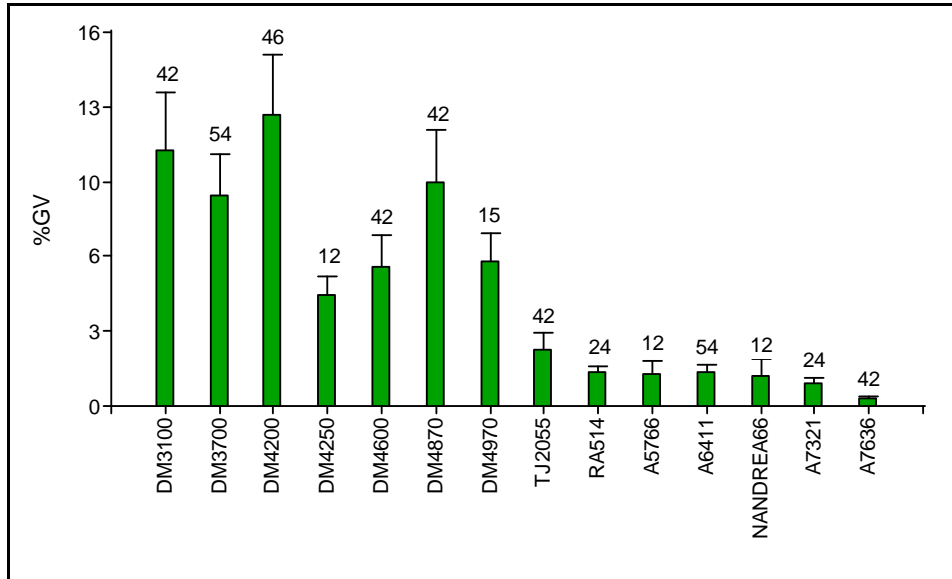


Figura 2.12: Presencia de grano verde (%GV) de diferentes genotipos de soja en relación a la quincena del mes de la siembra. Promedio de las campañas 2004/05, 2005/06, 2006/07 y 2008/09. Las barras muestran el error estándar y los números sobre las columnas definen el n (número de genotipos por año en que se evaluó).

De otro modo, el análisis de los valores de %GV de los cultivares para el promedio de años y de fechas de siembra, estableció que aquellos cultivares pertenecientes a GM precoces presentaron mayores niveles de GV que los más largos (Figura 2.13). El análisis de variancia para %GV considerando la variedad y el año como fuentes de variación detectó la significancia ( $p= 0,014$ ) de la variedad como así también del año ( $p=0,003$ ), mientras que la interacción de ambos no fue significativa ( $p=0,9676$ ).





**Figura 2.13:** Presencia de grano verde (%GV) por genotipo de soja, ordenados de acuerdo a la duración del ciclo. Promedio de las campañas 2004/05, 2005/06, 2006/07 y 2008/09. Las barras muestran el error estándar y los números sobre las columnas definen el n (número de campañas por fecha de siembra en que se evaluó cada genotipo).

Considerando las campañas donde se detectó presencia de grano verde (2004/05, 2005/06, 2006/07 y 2008/09), el análisis de la variancia sobre las fuentes variación cultivar, ambiente (quincena de siembra) y la interacción entre ambas (cultivar x ambiente), en la manifestación de GV, detectó que la mayor variación fue debida a la interacción (67,3%,  $p < 0,0001$ ), luego la provocada por el cultivar (30,7%,  $p < 0,0001$ ) y en menor medida por el ambiente (2,0%, p-valor no significativo). Esta respuesta destaca la importancia relativa de la interacción genotipo x ambiente (Apéndice III, Cuadro III.1).

Posteriormente, se realizó un análisis AMMI que comprobó que las dos primeras componentes principales (CP1 y CP2) explicaban el 92,5% de la variabilidad debida a la interacción genotipo x ambiente (Los autovalores y autovectores se muestran en el Apéndice III, Cuadro III.2). Además, este análisis confirmó que existe una marcada diferencia entre genotipos de GM precoces (III y IV) y los de GM más largos (V, VI y VII) y entre FS tempranas (2da. quincena de septiembre – 1ra. de noviembre) y más tardías (2da. de noviembre – 2da. de diciembre). El genotipo que realizó el mayor aporte a la interacción fue DM4200, mientras que DM4600 tuvo baja interacción con el ambiente (Figura 2.14).

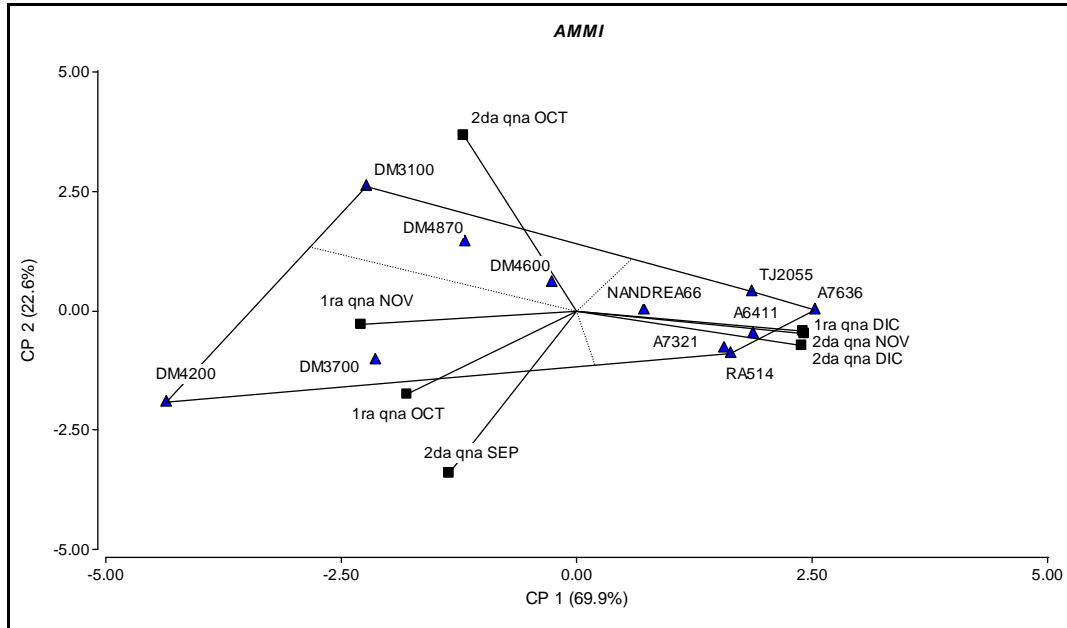


Figura 2.14: Representación biplot del aporte a la interacción genotipo x ambiente en la manifestación de grano verde de soja para 11 cultivares en seis ambientes o fechas de siembra. EEA Rafaela, campañas 2004/05-2005/06-2006/07 y 2008/09.

2.4.4. Manifestación de GV y su asociación con la temperatura durante el llenado

Para el conjunto de los datos, el %GV estuvo correlacionado con la temperatura media en llenado de granos ( $r = 0,66$ ,  $p < 0,0001$ ,  $n = 148$ ), siendo la correlación en la etapa R6-R7 similar a la de R5-R6 (0,60 y 0,59, respectivamente). Cuando se asoció el %GV a los déficit hídricos de éstas etapas durante el llenado, se encontró que la mayor correlación ( $r = 0,43$ ,  $p < 0,0001$ ,  $n = 148$ ) se dio con el déficit hídrico hacia el final del período de llenado (R6-R7).

En la manifestación de esta anomalía, no todos los grupos de madurez (GM) se vieron influenciados de la misma manera por efecto de la temperatura (Cuadro 2.9). El GM III y IV fueron los que más asociación presentaron con la temperatura, mientras que los restantes estuvieron más asociados con el déficit hídrico, en comparación con los otros grupos de madurez. El GM IV mostró además una mayor asociación con la temperatura y el déficit hídrico en la etapa R6-R7; el GM III la mayor asociación del %GV con la temperatura se observó en R5-R6 y con el balance hídrico negativo en la etapa R6-R7. Los restantes GM mostraron un comportamiento similar entre sí: mayores asociaciones de %GV con la temperatura y con el déficit hídrico en la etapa R5-R6, aunque en estos grupos de madurez la presencia de GV nunca fue demasiado evidente.

Cuadro 2.9: Coeficientes de correlación de Spearman. Campañas 2004/05 a 2008/09.

	GM III	GM IV	GM V	GM VI	GM VII
T media R5-R7 (°C)	$r = 0,71$ $p < 0,0001$	$R = 0,64$ $p < 0,0001$	$r = 0,67$ $p = 0,0021$	$r = 0,64$ $p = 0,0042$	$r = 0,63$ $p = 0,0045$
T media R5-R6 (°C)	$r = 0,64$ $p = 0,0003$	$r = 0,48$ $p = 0,0008$	$r = 0,69$ $p = 0,0015$	$r = 0,68$ $p = 0,0023$	$r = 0,61$ $p = 0,01$

	GM III	GM IV	GM V	GM VI	GM VII
T media R6-R7 (°C)	r = 0,57 p = 0,0013	r = 0,66 p < 0,0001	r = 0,53 p = 0,02	r = 0,33 p = 0,15	r = 0,53 p = 0,02
Déficit R5-R7 (mm)	r = 0,26 p = 0,015	r = 0,22 p = 0,13	r = 0,51 p = 0,02	r = 0,44 p = 0,05	r = 0,47 p = 0,03
Déficit R5-R6 (mm)	r = 0,13 p = 0,45	r = 0,12 p = 0,41	r = 0,46 p = 0,04	r = 0,40 p = 0,07	r = 0,44 p = 0,05
Déficit R6-R7 (mm)	r = 0,42 p = 0,02	r = 0,44 p = 0,0023	r = 0,41 p = 0,06	r = 0,28 p = 0,2	r = 0,10 p = 0,66

El análisis de componentes principales (ACP) utilizando datos estandarizados (debido a que las variables son medidas en diferentes escalas), originó un biplot conformado por las CP1 y CP2 que explicó el 99,7% de la variabilidad total. La CP1, explicó por sí sola el 98,4% de la variabilidad, observándose que el %GV, estuvo correlacionado positivamente con el déficit hídrico y la temperatura durante el llenado de granos, particularmente al déficit hídrico en R6-R7 y a la temperatura durante todo el llenado (Figura 2.15).

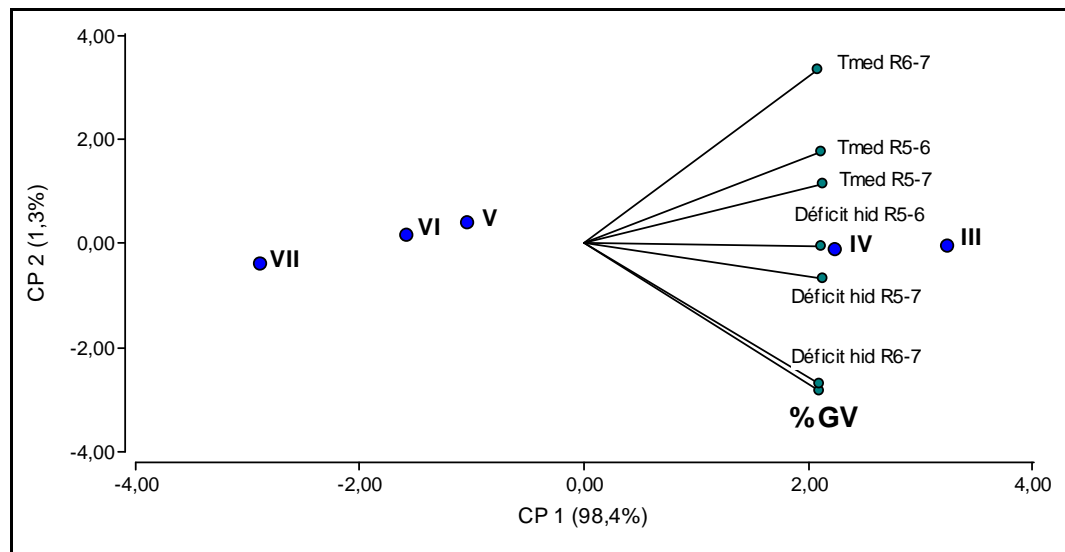


Figura 2.15: Biplot según el plano conformado por las dos primeras componentes principales (CP1 y CP2). Los puntos representan a los casos (GM III a VII) y los vectores a las variables.

Además, el %GV se orientó hacia la derecha del biplot, junto con las variables orientadas temperatura y déficit hídrico en llenado, mostrando altos valores para los casos correspondientes a los GM III y IV, mientras que los GM V al VII presentaron un comportamiento inverso. Además, la cercanía entre vectores sugiere que el %GV está altamente influenciado por el déficit hídrico durante la etapa R6-R7.

Cuando el ACP se realizó considerando como casos a las FS (Figura 2.16), se observó que las FS tempranas estuvieron asociadas a valores de temperaturas y de déficit hídricos mayores y que ambas variables estuvieron correlacionadas con %GV, particularmente el déficit hídrico y la temperatura media promedio en R6-R7.

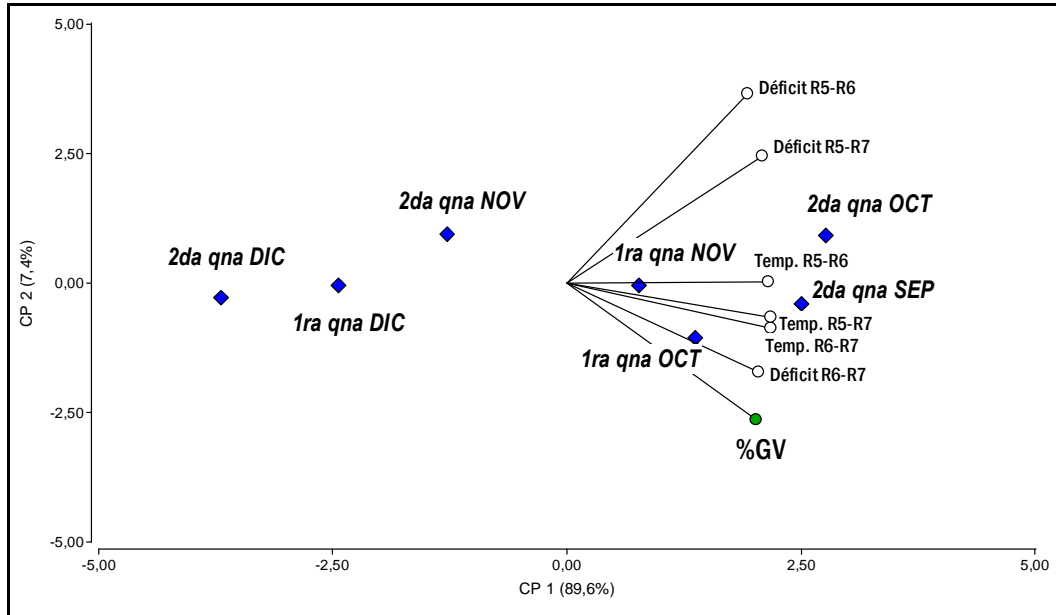


Figura 2.16: Biplot según el plano conformado por las dos primeras componentes principales (CP1 y CP2). Los puntos representan a los casos (FS) y los vectores a las variables.

Estos resultados sugieren que la presencia de grano verde en soja está condicionada por la temperatura y el balance hídrico durante el llenado de los granos y que la presencia se acentúa cuando se siembran GM III y IV en FS tempranas (2da quincena de septiembre – 1ra quincena de noviembre).

Para poder establecer las posibles causas de manifestación de GV, fueron consideradas las campañas en donde se observó una alta variabilidad en esta característica (2004/05 y 2005/06). En ellas, el período de llenado de granos (R5-R7) se fraccionó en cuatro etapas, considerando la duración en días de dicho periodo: 0-25%, 25-50%, 50-75% y 75-100%, lográndose la mejor asociación entre %GV y las condiciones de temperatura y déficit hídrico durante la última etapa (Figuras 2.17 y 2.18, para temperatura y déficit hídrico, respectivamente).

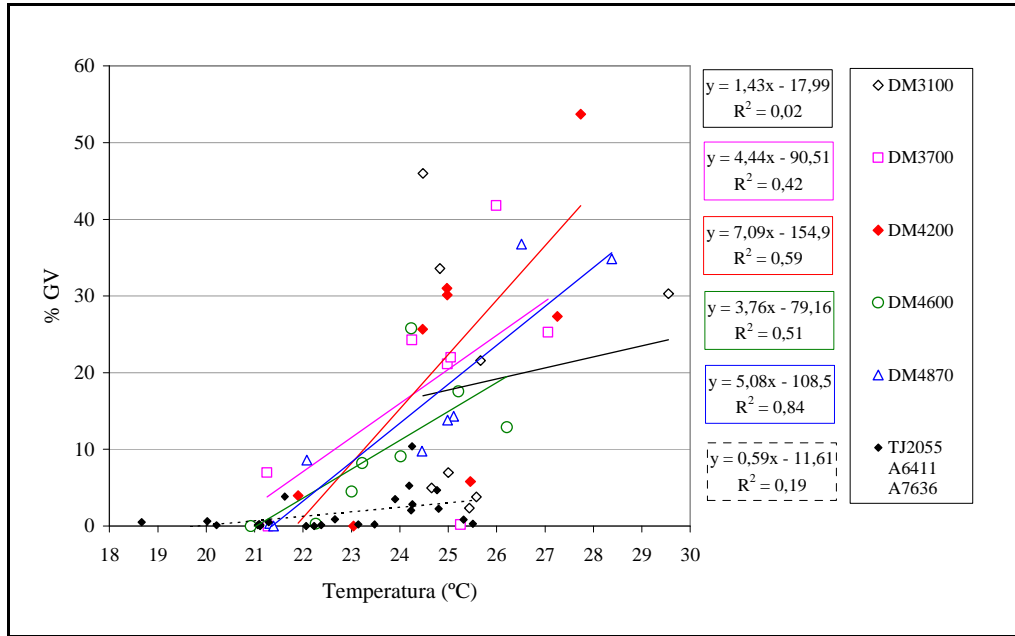


Figura 2.17: Porcentaje de granos verdes en soja en relación a la temperatura media diaria promedio en la etapa 75 a 100% del llenado de granos (medido en días). Campañas 2004/05 y 2005/06. El orden de las ecuaciones se corresponde con el de la referencia de las variedades.

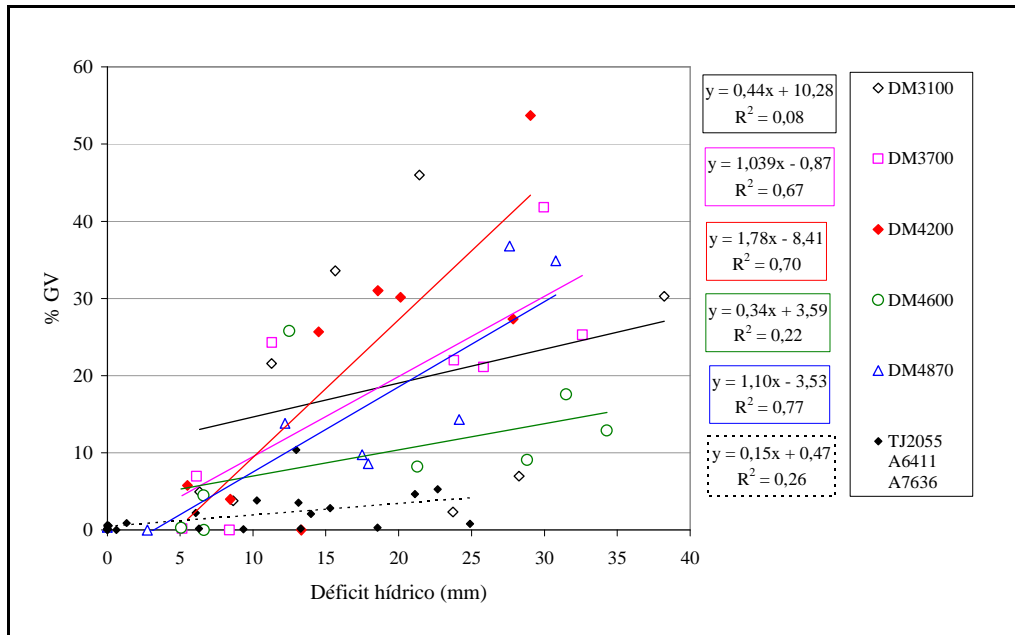


Figura 2.18: Porcentaje de granos verdes en soja en relación al déficit hídrico en la etapa 75 a 100% del llenado de granos (medido en días). Campañas 2004/05 y 2005/06. El orden de las ecuaciones se corresponde con el de la referencia de las variedades.

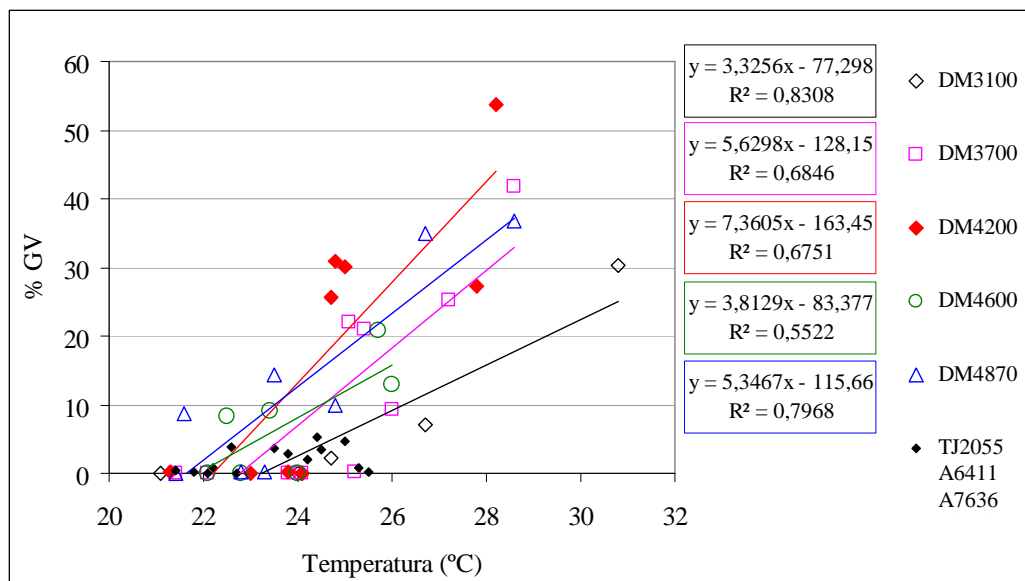
La magnitud de la respuesta fue diferente para los distintos cultivares. Para rangos intermedios de temperatura (21 – 26°C) y de déficit hídrico (10 – 25 mm), los genotipos pertenecientes a los GM III y IV tuvieron mayor respuesta en %GV al incremento de la temperatura que los de GM V, VI y VII. Además, los genotipos precoces exploraron condiciones de temperatura (mayor a 26°C) y déficits hídricos

(mayores a 25 mm) que no fueron exploradas por los genotipos largos en ninguna de las fechas de siembra.

El análisis de regresión con creación de variables auxiliares (“dummy”), permitió realizar una prueba de homogeneidad de pendientes. Para el caso de la temperatura, las pendientes diferenciadas estadísticamente fueron las de DM4200, DM4600 y DM4870 vs. TJ2055-A6411-A7636 ( $p=0,0361$ ,  $p=0,0772$  y  $p=0,0034$ , respectivamente). Para el déficit hídrico, las pendientes que se diferenciaron estadísticamente fueron las de los genotipos DM4600 vs. DM4200 y DM4870 ( $p=0,0173$  y  $p=0,0927$ , respectivamente), DM4200 y DM4870 vs. TJ2055-A6411-A7636 ( $p=0,069$  y  $p=0,0098$ , respectivamente) y DM3700 vs. DM4200 ( $p=0,0822$ ).

Si bien los GM más cortos fueron los que presentaron mayores valores de GV, asociado a una mayor temperatura y/o déficit hídrico durante el llenado, particularmente en el último cuarto de esta etapa, el cultivar DM4600 tuvo una respuesta inferior a genotipos de ciclo similar. Esta variedad se caracterizó por explorar en dicha etapa condiciones de déficit hídrico similar pero con temperaturas inferiores en comparación con las restantes variedades de ciclo corto.

Finalmente, para comprender hasta qué punto las altas temperaturas necesitan ser complementadas por estrés hídrico para generar GV, se realizó un análisis de regresión para los genotipos comunes presentes en las campañas 2004/05, 2005/06, 2006/07 y 2008/09. Cuando la variable independiente fue la temperatura media, y estableciendo un umbral de déficit hídrico mayor o igual a 35mm durante R5-R7, el incremento de la temperatura se asoció positivamente a los aumentos en %GV (Figura 2.19). De otro modo, al considerar los casos en que no había sido superado el umbral de déficit hídrico propuesto, no pudo observarse ninguna asociación (Apéndice IV, Figura 1).



**Figura 2.19:** Porcentaje de granos verdes en soja de diferentes genotipos, en relación a la temperatura media diaria promedio en la etapa R6-R7 cuando el déficit hídrico durante R5-R7 fue mayor a 35 mm. El orden de las ecuaciones se corresponde con el de la referencia de las variedades.

Un análisis en el sentido inverso, es decir estableciendo un umbral térmico de 23,5°C, mostró una respuesta diferencial en los genotipos. Mientras que DM4870 obtuvo una asociación lineal positiva (Figura 2.20 A), en el resto de los genotipos las relaciones halladas no resultaron significativas, aunque pudo apreciarse cierta tendencia a elevados %GV con déficits hídricos altos (Figura 2.20 B). Cuando se consideraron los casos en que no había sido superado el umbral térmico propuesto, no fue evidente la presencia de GV, aun con déficits cercanos a 100 mm durante R5-R7 (Figura 2.21).

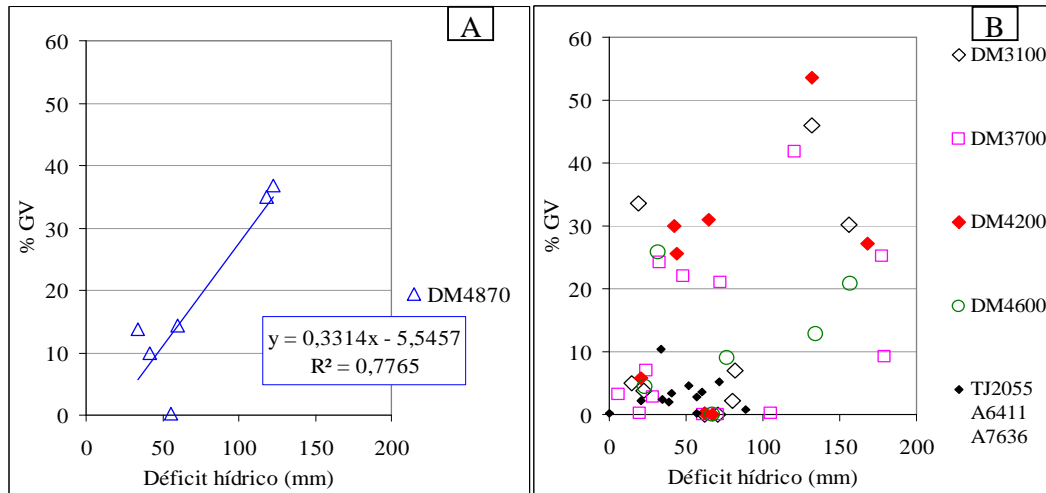


Figura 2.20: Porcentaje de granos verdes en soja DM4870 (A) y otros genotipos (B), en relación al déficit hídrico durante R5-R7 cuando la temperatura media diaria promedio en la etapa R6-R7 fue mayor o igual a 23,5°C.

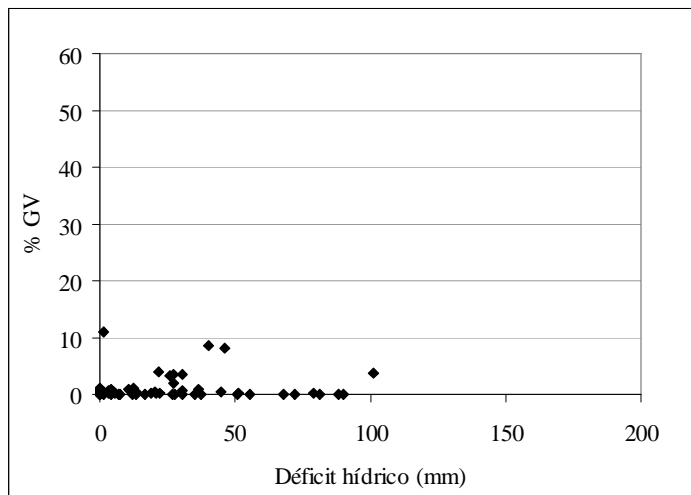


Figura 2.21: Porcentaje de granos verdes en soja en relación al déficit hídrico durante R5-R7 cuando la temperatura media diaria promedio en la etapa R6-R7 fue menor a 23,5°C. Los puntos corresponden a valores de diferentes genotipos.

## 2.5. DISCUSIÓN

En el análisis realizado en el presente capítulo, la mayor tendencia a presentar granos verdes se observó en cultivos sembrados en fechas tempranas (desde septiembre

hasta principios de noviembre). Resultados similares fueron reportados en el análisis de las muestras de la Red de Evaluación de Cultivares de Soja (RECSO) que realiza el INTA y que fueron oportunamente mostrados por Fuentes y Suárez (2006) y concuerdan con los hallazgos de Cuniberti *et al.* (2004, 2006).

Para el promedio de los datos, se determinó que los genotipos pertenecientes a grupos de madurez precoces presentaban mayores niveles de GV que los más largos. En concordancia, Cuniberti *et al.* (2004, 2006), Parra (2005) y Fuentes y Suárez (2006), mencionaron a los grupos precoces sembrados en fechas tempranas con una mayor posibilidad de presentar granos verdes.

En el presente trabajo, las fechas de siembra tempranas ubicaron la mayor parte de la etapa R5-R7, de los cultivares de GM III y IV, durante el mes de enero y principios de febrero, coincidiendo, en algunas campañas, con condiciones de elevadas temperaturas y de déficit hídricos, sobre todo en los años en que las lluvias fueron menores a los valores promedios.

En este sentido, cabe recordar que los mayores %GV se dieron en la campaña 2005/06, seguidos por la 2004/05. En ambas, se tuvieron registros térmicos elevados en coincidencia con un período de déficit de lluvias durante diciembre y enero que potenciaron el estrés del cultivo. La etapa de formación de los granos, para los genotipos de GM III y IV, se ubicó enteramente en la etapa de mayor estrés. En tales circunstancias los %GV hallados fueron extremadamente elevados para algunos materiales, particularmente en las FS de fines de octubre y principios de noviembre. En los GM más largos, una proporción creciente del periodo de llenado de granos coincidió con la liberación del estrés ocurrida en marzo.

Por otro lado, en las campañas donde los %GV hallados fueron bajos como la 2006/07 o nulos (campaña 2007/08) no se registraron condiciones desfavorables para el cultivo. Para el caso de la campaña 2006/07, si bien los registros térmicos fluctuaron por encima de la serie histórica hasta mediados de enero y las precipitaciones fueron deficitarias durante este mes, tanto los genotipos de los GM precoces como los más largos completaron su período de llenado de granos en condiciones no estresantes, debido a que el comienzo de las siembras fue retrasado hacia fechas más tardías que en las campañas precedentes. Esto pudo haber efectuado un efecto “escape” a las condiciones conducentes de la ventana más crítica del cultivo para esta problemática.

En el caso de la campaña 2007/08, las siembras se iniciaron con un contenido hídrico en el suelo muy favorable y, además, entre diciembre y marzo las lluvias acumuladas fueron superiores a los registros normales para la época. Esto, sumado a que las temperaturas medias fueron similares al promedio histórico en la mayor parte de la campaña, determinó que ninguno de los genotipos estuviera bajo condiciones estresantes durante el período de llenado de granos. Observaciones similares se presentan en Villar y Cencig (2008 b).

Contrariamente, en la última campaña mencionada, y para otras zonas de nuestro país, Cuniberti *et al.*, (2008) reportaron un valor promedio de 3,0% de GV con valores máximos de 18% en soja de primera y de 11% en soja de segunda, para el promedio de los acopios y cooperativas relevadas en la región núcleo-sojera del sur santafesino y sudeste de Córdoba.

Finalmente, la campaña 2008/09 tuvo una disponibilidad hídrica desfavorable hasta febrero, producto de una baja reserva inicial y lluvias inferiores a los registros promedios. Sumado a esto, ocurrieron temperaturas 2,7 °C superiores a lo normal para el



ciclo de crecimiento de la soja, lo que contribuyó a magnificar la demanda hídrica y por lo tanto, las condiciones de estrés hídrico de las plantas. Los cultivares de GM III y IV estuvieron expuestos a déficit hídricos en prácticamente toda la etapa reproductiva (R1-R7), situación frecuente para FS de octubre (Villar y Cencig, 2006 y 2008 a), pero dado lo prolongado de la falta de lluvias, esta situación también se dio en las dos FS de noviembre. A medida que las variedades pertenecían a GM más largos, se redujo el tiempo de exposición al estrés. En estas circunstancias, las plantas crecieron bajo estrés durante la mayor parte de su ciclo y los efectos de ello se vieron reflejados en mayor medida en el estado general del cultivo, en los bajos rendimientos logrados y en el peso de los granos (datos no mostrados en el presente estudio), que en los %GV hallados.

La variabilidad hallada en la manifestación de granos verdes a cosecha de la soja, fue mayormente debida a la interacción Genotipo x Ambiente, seguidas por el Genotipo, mientras que el aporte de la fuente de variación Ambiente no resultó significativo. Estos hallazgos señalan la importancia de ubicar correctamente la fecha de siembra para cada genotipo, de modo de evitar que la ventana crítica (período de llenado de granos) transcurra en ambientes conducentes de la anomalía. Resulta claro, entonces, que la problemática del grano verde, no está ligada a uno o a varios genotipos, sino a la combinación entre un genotipo en particular con un ambiente determinado, durante el período de llenado de los granos.

En este estudio, pudo apreciarse como la presencia de grano verde estuvo asociada a genotipos de los GM III y IV sembrados en fechas tempranas (segunda quincena de septiembre hasta primera de noviembre), lo cual ubicó la etapa de llenado R5 – R7 en condiciones de temperaturas elevadas y déficits hídricos. Se detectó, además, que la magnitud de las respuestas fue diferente para los distintos genotipos. En general, para los mismos valores de temperatura promedio y de déficit hídrico, los genotipos de GM V al VII, tuvieron una leve respuesta dada por aumentos en la producción de GV muy poco notorios mientras que los genotipos de GM III y IV presentaron una fuerte asociación del %GV con los incrementos de la temperatura, el déficit hídrico o ambos factores a la vez. Además, los grupos más cortos exploraron, para la misma etapa del llenado, condiciones de temperatura y déficits hídricos mayores (>26°C y >25 mm, respectivamente), que no fueron exploradas por los genotipos largos para ninguna de las fechas de siembra. Entonces, la poca respuesta de los genotipos de ciclos más largos, estaría relacionada, además, a que su período de llenado de granos, aun para siembras consideradas tempranas, transcurriría en condiciones ambientales menos conducentes de la anomalía.

Si bien los GM más cortos fueron los que presentaron los mayores valores de GV, el cultivar DM4600 tuvo una respuesta inferior a genotipos de ciclo similar al deterioro de las condiciones ambientales durante el último cuarto de la fase de llenado, y realizó muy poco aporte a la interacción Genotipo x Ambiente. Esta variedad se caracterizó por explorar en dicha etapa condiciones de déficit hídrico similar pero con temperaturas inferiores al resto de las variedades de GM cortos. Esto podría sugerir que la temperatura participa con un rol de mayor importancia que el déficit hídrico en la determinación del grano verde; sin embargo, los análisis de ACP sugieren una mayor asociación entre el déficit hídrico y el %GV. La variabilidad de la respuesta entre genotipos ha sido documentada por otros investigadores, pero sobre experimentos manipulativas realizados bajo condiciones controladas de humedad y temperatura, ya sea a partir de plantas crecidas en invernadero y llevadas a cámaras de crecimiento (Pádua *et al.*, 2009 a) o bien, tratamientos realizados directamente a las vainas cosechadas de plantas crecidas a campo (Sinnecker, 2002; Astegiano *et al.*, 2006). Los

resultados del presente estudio muestran la existencia de variabilidad genotípica que se expresa bajo condiciones de cultivo a campo.

En el presente capítulo se comprobó que, si bien toda la etapa de llenado sería afectada por las condiciones ambientales para la manifestación de GV, es particularmente relevante lo que ocurre en el último transcurso de éste, es decir en el período que va desde el 75 al 100% del llenado. Como se muestra en las figuras 2.17 y 2.18, una temperatura promedio mayor a 25°C en coincidencia con déficits hídricos para la misma etapa de más de 10 mm, producirían valores superiores al 20% de grano verde, en materiales pertenecientes a los GM III y IV.

Además, como fuera expuesto en las figuras 2.19, la temperatura durante la última etapa del llenado estaría influenciando la aparición de GV, solamente cuando estuvo acompañada por un déficit hídrico superior a los 35 mm durante todo el periodo de llenado de granos. En el otro sentido, analizando el efecto del déficit hídrico, pudo comprobarse como su efecto sobre la manifestación de GV se evidencia cuando se superan temperaturas medias de 23,5°C, siendo diferencial en los genotipos (Figura 2.20), y cuando este umbral térmico no fue superado, no fue evidente la presencia de GV aun con déficits cercanos a 100 mm durante R5-R7 (Figura 2.21).

Las evidencias encontradas en este estudio con relación a la manifestación de grano verde en el cultivo de soja, son particularmente importantes por el análisis de la relación entre ésta variable y las condiciones ambientales (temperaturas y disponibilidad hídrica). Hasta el presente, no se ha encontrado información que vincule estos aspectos en ensayos realizados a campo. Esa información, podría acoplarse a modelos de predicción fenológica de soja con marchas de temperatura máxima y ET diarias, a fin de calcular la probabilidad de sufrir estrés térmico, solo o combinado con estrés hídrico, en sub-etapas particulares del período R5-R7.

## 2.6. CONCLUSIONES

2.6.1. Existe una asociación positiva entre el incremento de la temperatura y la producción de granos verdes en el cultivo de soja.

2.6.2. Los distintos genotipos de soja difieren en la magnitud de la respuesta. Particularmente, los cultivares de GM III y IV mostraron mayor tendencia a presentar elevados %GV en algunas fechas de siembra.

2.6.3. Las fechas de siembra tempranas, desde la segunda quincena de septiembre hasta la primera de noviembre, ubican la etapa R5-R7 de los cultivares de soja de GM III y IV en condiciones de elevadas temperaturas y mayores posibilidades de sufrir déficit hídricos. Dichas condiciones se presentan, a partir de este estudio, como las más conducentes en la aparición de granos verdes en la cosecha de soja.

2.6.4. Por lo expuesto, si se pretende evitar la presencia de granos verdes a cosecha en Rafaela, la siembra de materiales precoces (GM IV) debieran realizarse a partir de la segunda quincena de noviembre. Con los cultivares de ciclos más largos la ventana de siembra no estaría acotada.

## CAPÍTULO 3

### ESTRÉS TÉRMICO Y MOMENTO CRÍTICO DE LA SOJA PARA LA APARICIÓN DE GRANO VERDE

#### 3.1. INTRODUCCIÓN

##### 3.1.1. Maduración de la semilla de soja

La senescencia en las plantas es generalmente vista como una degeneración interna programada que conduce a su muerte. Se trata de un proceso de desarrollo que se produce en diferentes tejidos y sirve para distintos propósitos (Noodén *et al.*, 1997). La etapa final del desarrollo de la semilla (maduración) en la mayoría de las plantas se inicia con una declinación natural en el contenido de agua de las semillas (Adams and Rinne, 1980).

Además de la disminución del contenido del agua, la pérdida de clorofila es una parte esencial de la senescencia de hojas y de frutos en su maduración. El proceso conocido como “degreening” consiste en la degradación de la clorofila que, para la mayoría de las especies, ocurre durante la maduración de la planta. Al mismo tiempo, el color de la semilla pasa de verde a un color que depende de la especie y varía con el cultivar (Ward *et al.*, 1995; Jalink *et al.*, 1998).

Esta pérdida de humedad se produce de manera brusca, interrumpiendo tanto el suministro de agua como de materia orgánica hacia las semillas, iniciándose así la senescencia normal de éstas, perdiendo agua por evaporación (Sinnecker, 2002). La drástica reducción del contenido de agua, explica la declinación o inhibición de la actividad metabólica (McIntyre, 1987; Câmara y Heiffg, 2000).

De acuerdo con Guiamét *et al.* (1991), el desarrollo de las semillas de la soja está correlacionado con el amarillamiento de las vainas y hojas, como parte de la senescencia monocárpica, que Noodén (1984) definió como el proceso que conduce a la muerte del organismo, en el final de la fase reproductiva. Una de las características de la maduración de las semillas de soja es la degradación de la clorofila presente (Adams *et al.*, 1983; Ward *et al.*, 1992 y 1995). El proceso de senescencia de la semilla se da, por lo general, a partir del estado de R7 hasta R8, pero la pérdida de clorofila en las semillas puede ocurrir aún en semillas inmaduras; dependiendo de las condiciones de desecación, semillas cosechadas en R6 (es decir, cuando han alcanzado su máximo tamaño) pueden degradar parcialmente la clorofila durante la post-cosecha (Sinnecker *et al.*, 2005).

##### 3.1.2. Influencia de la temperatura en la degradación de clorofila

El primer paso en la degradación de la clorofila *in vivo* es la remoción de la cadena lateral hidrófoba conocida como fitol; la clorofilasa es la enzima que *in vitro* cataliza esta remoción y ha sido encontrada en la mayoría de las plantas. La enzima fue descubierta en 1910 por Willstatter y Stoll y posteriormente Mayer, en 1930, hizo una extensiva observación de la actividad de la clorofilasa en diferentes especies investigando algunas propiedades de la enzima (Holden, 1961). En especies vegetales como canola (Jonhson-Flanagan y Spencer, 1996) y porotos (Cheng *et al.*, 2004), se ha encontrado que el incremento de la actividad clorofilasa está asociado a la pérdida de color verde en las semillas.

La influencia de la temperatura sobre la actividad de la enzima clorofilasa fue reconocida desde hace mucho tiempo. La pérdida de actividad de la enzima, medida sobre extractos vegetales de *Beta vulgaris* L., fue mucho más rápida a 20°C que a 0° (Holden, 1961), mientras que a 65° C, la enzima parcialmente purificada se destruyó en tan solo 10 minutos. En ese trabajo, la autora menciona que el óptimo de temperatura para la actividad de la clorofilasa y la temperatura a la cual la enzima es desactivada, fue más bajo que para muchas otras enzimas (Figura 3.1).

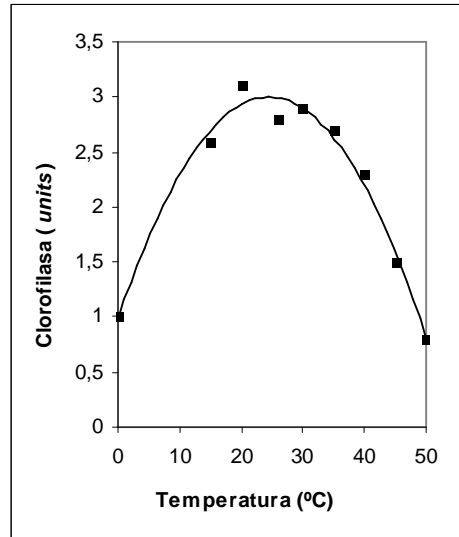


Figura 3.1: Variación de la actividad clorofilasa por efecto de la temperatura. Adaptado de Holden (1961). Nota: Units es la cantidad con la que se cataliza la ruptura del 10% de sustrato de clorofila a clorofilida en una hora.

Investigaciones realizadas sobre brócoli (*Brassica oleracea* L.) almacenado (Funamoto *et al.*, 2002) para estudiar los efectos de las altas temperaturas sobre la actividad de las enzimas que degradan a la clorofila, mostraron que el tratamiento con calor (50° C por 2 h) redujo la degradación de la clorofila. De la misma forma, Costa *et al.* (2006) aplicaron tratamientos de aire caliente (48°C por 3 h) sobre las flores de brócoli y evaluaron su efecto sobre el catabolismo de la clorofila durante la poscosecha y encontraron que la actividad de la clorofilasa se incrementó más tarde y a una tasa menor que en las flores no tratadas.

A partir de los datos de la bibliografía consultada, puede inferirse entonces que la enzima responsable de la degradación de la clorofila en los granos de soja es la clorofilasa, siendo la misma afectada por las altas temperaturas. Esto apoya la posibilidad de que las temperaturas durante la etapa de maduración del grano sean responsables de la producción de grano verde en soja.

### 3.1.3. Momento fenológico en el que ocurre el estrés y su efecto sobre la determinación de granos verdes

Aunque el mecanismo general de la degradación de la clorofila ha sido establecido, existe poca información de la influencia de las condiciones ambientales sobre los mecanismos involucrados en la degradación de la clorofila en soja durante la maduración.

Al respecto, y como fuera mencionado en el apartado 1.1., Sinnecker *et al.* (2005), al investigar sobre el proceso de “*degreening*” en semillas de soja, demostraron que en las semillas secadas al aire a 25°C se degradaba completamente la clorofila, excepto cuando fueron cosechadas en el inicio de R6; en este último caso la degradación fue solo parcial. Sin embargo, semillas cosechadas y secadas a 40°C conservaban altos niveles de clorofila, es decir, que el proceso de “*degreening*” había sido bloqueado. Los autores argumentaron que la alta cantidad de clorofila remanente se debía a la pérdida brusca de agua a la que fue sometida la semilla. En el mismo sentido, Adams *et al.* (1983), informaron que las semillas deshidratadas en forma lenta presentaban finalmente 1 µg clorofila/semilla y aquellas deshidratadas de forma rápida llegaron a presentar 29 µg clorofila/semilla.

Por su parte, Franca Neto *et al.* (2005), trabajando con plantas de soja del cultivar CD 2069 expuestas a estrés térmico y déficit hídrico en condiciones controladas (Fitotrón) durante el período de llenado y maduración de los granos, constataron que el estrés hídrico intenso asociado con temperaturas elevadas (T<sub>máx.</sub>: 36°C) en R6 resultaron en elevados porcentajes de granos verdes. En contraste, un mismo estrés hídrico intenso a partir de R6, pero asociado con temperaturas moderadas (T<sub>máx.</sub>: 26°C) no determinó porcentajes significativos de grano verde. A partir de R7, estreses de esa intensidad no determinaron la aparición de grano verde. En este trabajo, sin embargo, no es posible discriminar el efecto de la temperatura del de la falta de agua en la aparición de granos verdes.

Entonces, si bien existe evidencia de que el período de susceptibilidad a las altas temperaturas que provocaría la presencia de grano verde en soja coincide con el período de llenado de los granos, no se han hallado antecedentes que determinen fehacientemente, y bajo condiciones de campo, cuál sería el momento dentro de dicho período que posee la mayor sensibilidad a este fenómeno. Identificar esta “ventana” de sensibilidad permitiría diseñar sistemas de manejo (p.e., combinaciones de fechas de siembra y genotipo) que tiendan a evitar la coincidencia de esta “ventana” de sensibilidad con períodos en los que se esperan altas temperaturas.

Sin embargo, los hallazgos presentados en el Capítulo 2, muestran que los mayores %GV se dieron en las campañas 2004/05 y 2005/06. En ellas, las temperaturas fueron elevadas y acompañadas por un período de déficit de lluvias durante diciembre y enero, lo que determinaron un estrés en el cultivo. La etapa de formación de los granos, para los genotipos de GM III y IV, se ubicó enteramente en la etapa de mayor estrés, determinándose %GV extremadamente elevados para algunos materiales, particularmente aquellos sembrados a fines de octubre y principios de noviembre. También se comprobó que la presencia de GV se asocia a condiciones de altas temperaturas y de déficit hídrico en coincidencia con la última etapa de llenado de los granos, pero no se pudieron separar los efectos individuales de las dos variables.

### 3.2. OBJETIVOS

- 3.2.1. Identificar el momento del desarrollo del grano de soja en el cual un estrés por elevada temperatura, bajo diferentes escenarios hídricos, sería crítico en la determinación de grano verde.
- 3.2.2. Evaluar la magnitud de la presencia de granos verdes, discriminando por la extensión de la coloración en los granos y de acuerdo al estrato de las plantas, y

analizar el efecto de la presencia de GV sobre el poder germinativo de las semillas.

### 3.3. MATERIALES Y MÉTODOS

A fin de determinar el momento del desarrollo de los granos en el cual un estrés por elevada temperatura sería crítico en la aparición de granos verdes, se condujeron ensayos a campo bajo condiciones semi-controladas, para generar micro ambientes con estrés térmico acentuado mediante la utilización de carpas de polietileno, durante las campañas 2006/07, 2007/08 y 2008/09.

#### 3.3.1. Experimento 1: Ajuste de metodologías. Campaña 2006/07

Se trabajó sobre el ajuste de las metodologías para asegurar la adecuada imposición del estrés térmico. Para ello, se fabricaron carpas de 1,6 por 4 m de base y 1,20 m de altura máxima (estructura similar a un micro-túnel pero de mayor tamaño) utilizando hierro para su estructura y polietileno cristal de 100  $\mu\text{m}$  de espesor para cubrir el techo y los laterales. Para los testigos, con el objetivo de eliminar el efecto de cualquier alteración provocada sobre la radiación por la cobertura plástica, se fabricaron estructuras similares a las carpas, con el mismo tipo de techo pero sin colocación de polietileno en los laterales (Figura 3.2).



Figura 3.2: Vistas de la carpa de polietileno para imposición de estrés térmico y del techo (carpa sin laterales).

El siguiente paso fue evaluar si el testigo era efectivo en no alterar la temperatura interior con respecto a la registrada en el exterior (testigo absoluto: sin alteración de temperatura, radiación y  $[\text{CO}_2]$ ). Cabe aclarar que, la eliminación de  $\text{CO}_2$  se producía al levantar los laterales de las carpas en el período 16:00 a 10:00 h del día siguiente. Además, para permitir un correcto intercambio gaseoso, durante todo el período de evaluación, la carpa tuvo 10 cm sin cubrir con polietileno en su parte inferior. Todas las variables (radiación, temperatura y  $[\text{CO}_2]$ ), fueron simuladas previamente con el uso del *software* Inversim para diseño de invernaderos (Bouzo *et al.*, 2006), por lo que se consideraron de apropiada utilidad.

La temperatura y humedad, en el exterior e interior de las carpas fueron registradas con monitores de cultivo *WatchDog* empleando para ello el *software* Spec Ware 6 (2003). Dichos monitores se ubicaron a aproximadamente 0,70 m por sobre el nivel del suelo y dentro del canopeo del cultivo (Figura 3.3). Cada monitor disponía de sensores de temperatura y humedad, con registros cada 10 minutos. Las temperaturas se

registraron durante el periodo desde el 27 de febrero y el 2 de marzo, en donde se produjeron lluvias de 0,4; 21,6 y 34,4 mm en los tres primeros días del periodo.



Figura 3.3: Vista del sensor de temperatura y humedad relativa dentro de una carpa.

### 3.3.2. Experimento 2: Efecto de la imposición de estrés térmico sin limitaciones en la disponibilidad hídrica. Campaña 2007/08

El ensayo se realizó en la EEA Rafaela del INTA, sobre un suelo *Argiudol típico*, serie Rafaela, con rastrojo de maíz de la campaña anterior. Se utilizó el cultivar DM4200 sembrado mediante siembra directa en tres fechas: 23/10/07, 5/12/07 y 18/12/07, a 0,52 m de espaciamiento entre líneas.

Cada época se sembró como un ensayo independiente con un diseño de parcelas divididas en bloques completos al azar con tres repeticiones. A la parcela principal se le asignó el tratamiento térmico (con y sin aplicación de estrés térmico) y a la parcela secundaria el momento de aplicación del tratamiento térmico dentro del período de llenado del grano.

Los momentos de aplicación del estrés térmico acentuado fueron: M1: R5 a R5.5; M2: R5.5 a R6 y M3: R6 a R7. Para la determinación de los momentos, se realizó la estimación de la fenología del cultivo según la escala externa convencional de Fehr y Caviness (1977), considerando R5.5 como el momento en que los granos, en una vaina de los cuatro nudos superiores de la planta, alcanzan, visualmente, el 50% de su volumen final. Además, se evaluó el estado de desarrollo de los granos de acuerdo a la determinación del contenido de humedad antes de la colocación de la carpa y después de que la misma fuera retirada. Para ello, se tomaron muestras de 50 vainas ubicadas en el tallo principal de la planta de los nudos con posición central (nudo 4° y 5°, comenzando a contar desde el ápice del tallo).

A fin de lograr la imposición del estrés térmico se usaron carpas como las descritas en el Experimento 1. De la misma manera, para eliminar el probable efecto de reducción de la radiación causada por el polietileno se emplearon testigos (“techos”) descriptos también en dicho experimento (Figura 3.4).





Figura 3.4: Vistas del Experimento 2.

Para suprimir el efecto del estrés hídrico durante el período de desarrollo de los granos, las parcelas fueron regadas por goteo a demanda mientras duró la imposición del tratamiento (Figura 3.5). La demanda diaria de agua fue estimada a partir del cálculo del balance hídrico (BH) diario. Para ello, al inicio de cada siembra se determinó el contenido de agua útil en el suelo por gravimetría mediante un muestreo hasta 1,5 m de profundidad y se tuvieron en cuenta, los mismos supuestos empleados en el cálculo de los BH efectuados en el Capítulo 2. De la misma manera, el método para estimar la evapotranspiración potencial del cultivo fue el propuesto por Penman-Monteith (Monteith, 1965).

A fin de efectivizar el riego, se confeccionaron nueve peines de riego con caños de PVC de 1,80m que contenían tres cintas de goteo cada uno, distanciadas a 0,52 m entre ellas y 20m de longitud. Con este sistema se logró realizar una lámina de riego de 5,2 mm/hora. Cada tratamiento, también contó con un testigo sin techo y de un testigo absoluto (sin carpa y sin riego). La temperatura se registró cada 10 minutos, usando un *data logger* Watch Dog conectado a un sensor ubicado a nivel del canopeo.



Figura 3.5: Vista general y detalle del sistema de riego. El detalle muestra las cintas de riego ubicadas sobre cada surco de siembra.



La cosecha se realizó manualmente sobre dos surcos de tres metros de longitud por unidad experimental y la trilla se efectuó con una cosechadora de parcelas.

Se determinó el rendimiento de grano en kg/ha corregido al 13,5% de humedad. Se evaluó el peso de 1000 granos y se obtuvo el número de granos por unidad de superficie a partir de la relación entre el rendimiento y el peso de granos. Se extrajeron muestras de 100g de semilla para la determinación del porcentaje GV. De acuerdo a lo establecido en la “Norma de Calidad para la comercialización de Soja, Norma XVII”, del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, se consideraron como GV los que presentaban externamente cualquier intensidad de color verde, total o parcial, y los resultados fueron expresados como %GV.

### 3.3.3. Experimento 3: Efecto de la imposición de estrés térmico con baja disponibilidad hídrica. Campaña 2008/09

Se realizó un ensayo con condiciones semi-controladas mediante la utilización de carpas de polietileno. El ensayo se realizó en la EEA Rafaela del INTA, sobre un suelo *Argiudol típico*, serie Rafaela, con rastrojo de maíz de la campaña anterior y la siembra fue en directa a 0,52 m de espaciamiento entre líneas.

Con el objetivo de superponer en el tiempo los estados fenológicos a imponerles el tratamiento térmico y lograr así que el estrés ocurriera con similares condiciones ambientales para cada fase de desarrollo, se sembró un mismo cultivar (DM4200) en tres fechas escalonadas (17/10/08, 03/11/08 y 24/11/08). Tomando como referencia los mismos momentos de imposición de estrés que en el experimento 2 (M1: R5 a R5.5; M2: R5.5 a R6 y M3: R6 a R7), los momentos del tratamiento térmico fueron M3, en la primera fecha, M2 en la segunda y M1 en la tercera fecha. El diseño experimental fue de bloques completos al azar con un arreglo factorial y tres repeticiones. Los dos factores fueron: Momento (3 niveles: M1, M2 y M3) y Temperatura (2 niveles: estrés forzado y ambiente).

Para aumentar la temperatura, se usaron carpas de polietileno cuya forma, dimensiones y manejo fueron similares a lo descrito en el Experimento 2. Asimismo, la temperatura se registró cada 10 minutos, mediante la colocación de *data logger* (Watch Dog) conectado a un sensor ubicado a nivel del canopeo.

Durante el ciclo del cultivo, la fenología se evaluó según la escala externa convencional de Fehr y Caviness (1977). Tanto la cosecha como la trilla posterior se realizaron manualmente sobre dos surcos de tres metros de longitud por unidad experimental. Previo a la trilla manual, las plantas cosechadas fueron fraccionadas en dos estratos: superior e inferior. Posterior a ésta, se determinó el rendimiento en grano (kg/ha, 13,5% humedad) y el porcentaje de GV. Para el análisis se incluyó, entonces, el tercer factor “estrato” a los ya mencionados “momento” y “temperatura”.

Los componentes del rendimiento (vainas/m<sup>2</sup>, granos/m<sup>2</sup>, granos/vainas y peso de 1000 granos) fueron evaluados manualmente (separación de vainas, trilla posterior de éstas y conteo y peso de los granos) sobre una muestra de un metro lineal en forma manual.

En este experimento se separaron los granos verdes en dos grupos, de acuerdo a la extensión de la coloración verdosa. De esta forma, cuando los granos tuvieron más del 80% de la superficie verde se los consideró “totalmente verdes”; de lo contrario se los incluyó en los “parcialmente verdes” (Figura 3.6).

Tanto la separación de las plantas en dos estratos como la diferenciación de granos verdes en dos grupos, tuvieron la intención de conocer con mayor detalle cómo se presenta esta anomalía en el cultivo. Para analizar el comportamiento de la variable %GV, se realizaron pruebas t para muestras independientes sobre cada momento.

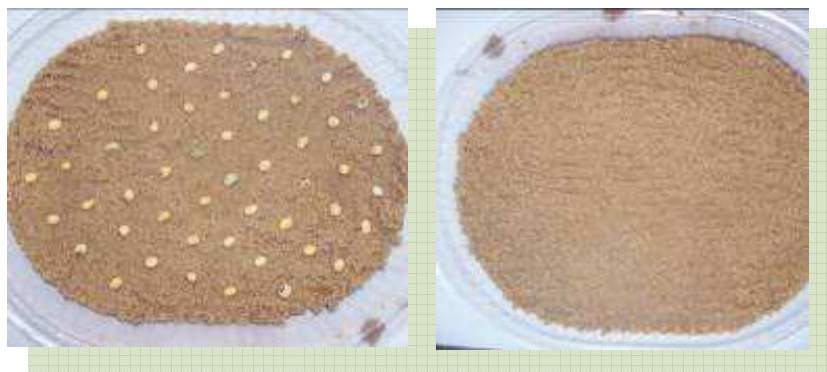


**Figura 3.6:** Imágenes de granos parcialmente verdes (A) y totalmente verdes (B). Cultivar de soja DM4200, campaña 2008/09.

### 3.3.3.1. Germinación estándar

Se separaron cuatro muestras de 50 semillas por cada tratamiento y se les efectuó la prueba de germinación estándar. Para ello, en las 50 semillas, se respetó el porcentaje de grano verde que se había determinado previamente, considerando su contenido en granos total y parcialmente verdes.

Para la prueba se empleó arena húmeda como medio de crecimiento, previamente esterilizada y tamizada. La esterilización se realizó en estufa a 120°C durante 24 horas y para el tamizado se empleó una malla de 0,8 mm. Los recipientes empleados para la siembra fueron bandejas plásticas de 20 x 13 x 5 cm. En el interior de la bandeja se colocó una capa de arena humedecida de 20 mm de espesor, distribuyéndola uniformemente. Las semillas se esparcieron manualmente asegurando una correcta distribución y se cubrieron con una capa de 20 mm de arena húmeda (Figura 3.7).



**Figura 3.7:** Vistas de la siembra de muestras para el ensayo de germinación. Rafaela, campaña 2008/09.

Las bandejas se introdujeron en bolsas de polietileno a fin de evitar pérdidas de humedad del medio de crecimiento. Luego se dispusieron en una estufa regulada a 25°C de temperatura constante y en condiciones de luz artificial para lo que se emplearon dos lámparas “frías” de 40 watts (Figura 3.8).



Figura 3.8: Vista de las muestras del ensayo de germinación dentro de la estufa. Rafaela, campaña 2008/09.

Las evaluaciones de las plántulas fueron realizadas al octavo día desde de la siembra según establecen las reglas ISTA (2003). La clasificación de las plántulas se realizó según criterio del Manual de Evaluación de Plántulas de ISTA, 3ra edición (ISTA, 1995a). Los resultados se expresaron como Porcentaje de Plántulas Normales.

### 3.4. RESULTADOS

#### 3.4.1. Experimento 1: Ajuste de metodologías. Campaña 2006/07

La evolución de la temperatura exterior en comparación con la obtenida bajo la carpa sin laterales o “techo”, se presenta en la Figura 3.9. Los registros térmicos durante la evaluación fluctuaron entre los 14,1 y 29,5°C para la temperatura exterior y los 14,1 y 30,4°C para la carpa sin laterales. Las temperaturas evolucionaron en forma conjunta para ambos sensores, con promedios para toda la etapa de evaluación de 21,88° vs. 21,95°C para la temperatura exterior y carpa sin laterales, respectivamente, con un sesgo de +0,07°C y un error o desvío medio de 0,12°C.

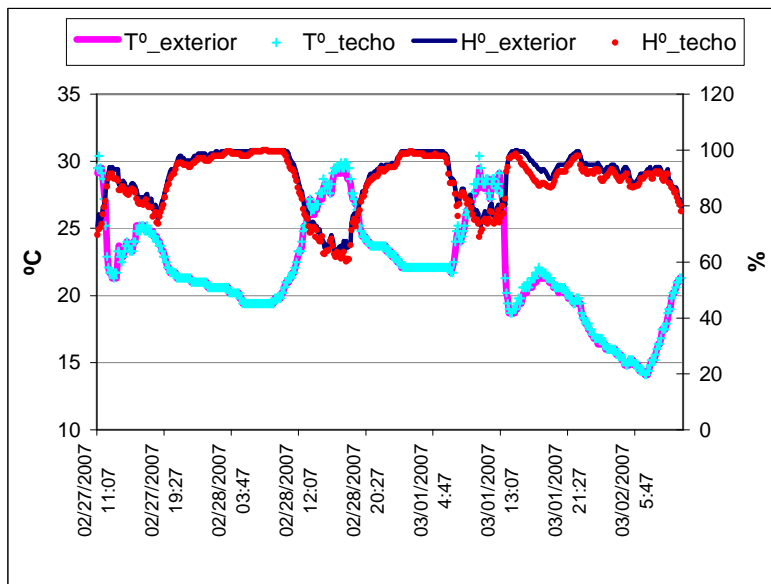


Figura 3.9: Evolución de la temperatura exterior y en el interior de la carpa sin laterales (“techo”). EEA Rafaela, campaña 2006/07.

Por su parte, la humedad relativa ambiente fluctuó entre los 63,8 y 100 % para la lectura en el exterior y los 60,1% y 100% para la carpa sin laterales. La humedad también evolucionó en forma conjunta para ambos sensores, con promedios para toda la etapa de evaluación de 90,4 vs. 88,4% para la temperatura exterior y carpas sin laterales, respectivamente, y con un sesgo de -2,0% y un error o desvío medio de 0,13%.

Con respecto a la cuantificación del incremento de temperaturas obtenido por el uso de la carpa como medio de imposición de estrés térmico, se presentan los resultados comparados a los registrados en la carpa testigo sin los laterales (Figura 3.10).

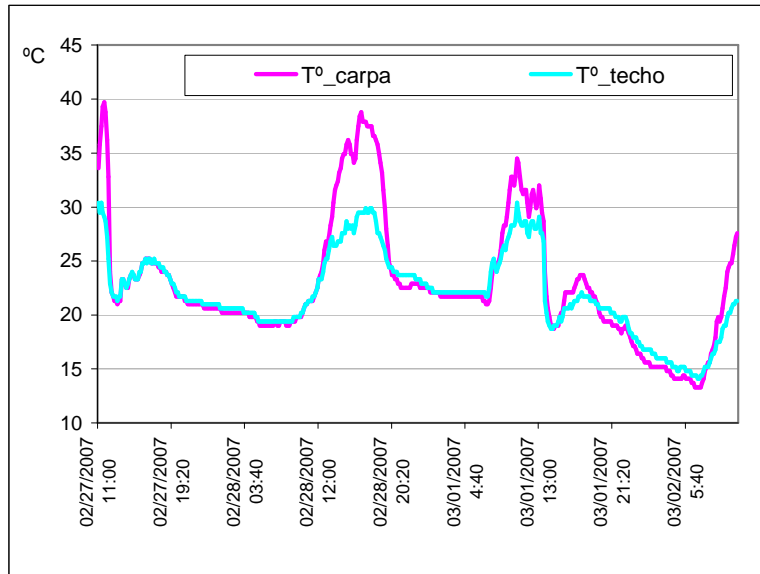


Figura 3.10: Evolución de la temperatura en el interior de la carpa y en la carpa testigo sin los laterales (“techo”). EEA Rafaela, campaña 2006/07

El empleo de las carpas de polietileno aseguró el incremento de temperatura en la canopia del cultivo. El aumento promedio para toda la evaluación fue de 0,9°C (22,9 vs. 22,0°C). Sin embargo, durante el día se generaron temperaturas que, en algunos días, superaron en 10°C a las del testigo (Cuadro 3.1), con un incremento promedio de 3,6°C (28,4 vs. 24,8°C), siendo similar la evolución de temperaturas durante la noche.

Cuadro 3.1: Incremento de la temperatura media y amplitud térmica máxima logrados con el uso de la carpa de polietileno vs. “techo” en cuatro períodos.

Período	Incremento de la temperatura media	Amplitud térmica máxima
	°C	
1	7,2	10,6
2	5,6	9,3
3	1,9	4,6
4	2,9	6,3

3.4.2. Experimento 2: Efecto de la imposición de estrés térmico sin limitaciones en la disponibilidad hídrica. Campaña 2007/08

Para cada fecha de siembra, las fechas en las que ocurrieron los comienzos de M1, M2 y M3, dentro del período de llenado de granos y el fin de M3 (R7), se presentan en el Cuadro 3.2. El M3 de la FS1 estuvo parcialmente superpuesto con el M1 de la FS 2 mientras que los M1, M2 y M3 de la FS3 se superpusieron parcialmente con la ocurrencia de los M2 y M3 de la FS2. En general, la duración del M3 fue menor que los momentos anteriores y, además, todos los períodos de calentamiento fueron más breves en la FS3.

Cuadro 3.2: Fechas de ocurrencia de los inicios de M1, M2 y M3 y fin de M3 (R7). Soja DM4200, campaña 2007/08.

	M 1	M2	M3	Fin M3
FS 1: 23/10/07	30/12/07	17/01/08	01/02/08	14/02/08
FS 2: 05/12/07	05/02/08	22/02/08	07/03/08	17/03/08
FS 3: 18/12/07	22/02/08	05/03/08	19/03/08	26/03/08

Por su parte, la evolución del contenido de humedad (%) de los granos en la posición central de la planta (nudos 4° y 5°) sugiere que en la FS3 los tres episodios de estrés se aplicaron con granos en estado de desarrollo levemente más avanzados que en la FS1 (Figura 3.11).

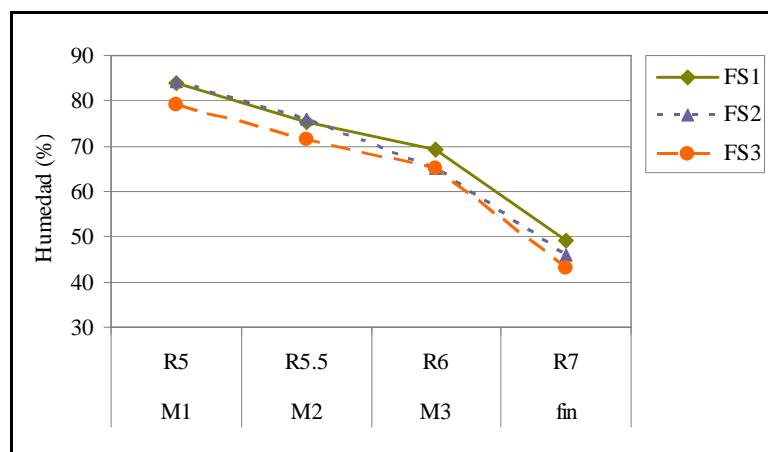


Figura 3.11: Evolución del contenido de humedad de los granos de soja de los nudos 4° y 5°, para el inicio de cada momento de llenado (M). Soja DM4200, campaña 2007/08. Nota: Cada punto es el promedio de tres repeticiones de trilla de 50 vainas.

La utilización de las carpas de polietileno permitió incrementos de temperatura promedio diurnas (9:00 a 18:00 h) de 5,9°, 7,7° y 7,0° C, para M1, M2 y M3, respectivamente y un valor diferencial de temperaturas máximas de +7,4°, +10,0° y +8,6° C, para M1, M2 y M3, respectivamente. En las Figuras 3.12, 3.13 y 3.14, se muestran la marcha de la temperatura dentro de las carpas y en los testigos. Puede apreciarse como, para la mayoría de los casos, hubieron días en que la temperatura bajo la carpa estuvo por encima de los 40°C, incluso episodios de hasta 50°C, por lo cual las plantas experimentaron **situaciones de fuerte estrés térmico** en al menos un período dentro del llenado de granos.

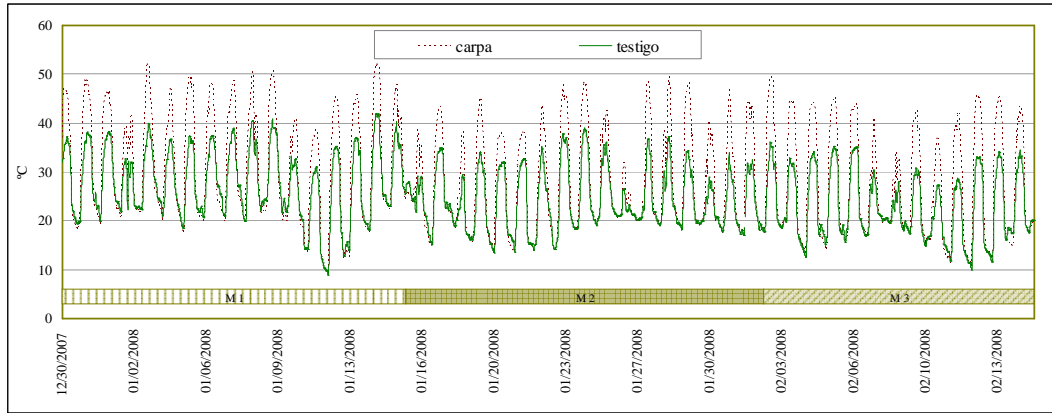


Figura 3.12: Evolución de la temperatura en el interior de la carpa y en el testigo. FS 1: 23/10/07, Rafaela, campaña 2007/08. M1: R5 – R5.5; M2: R5.5 – R6 y M3: R6 – R7.

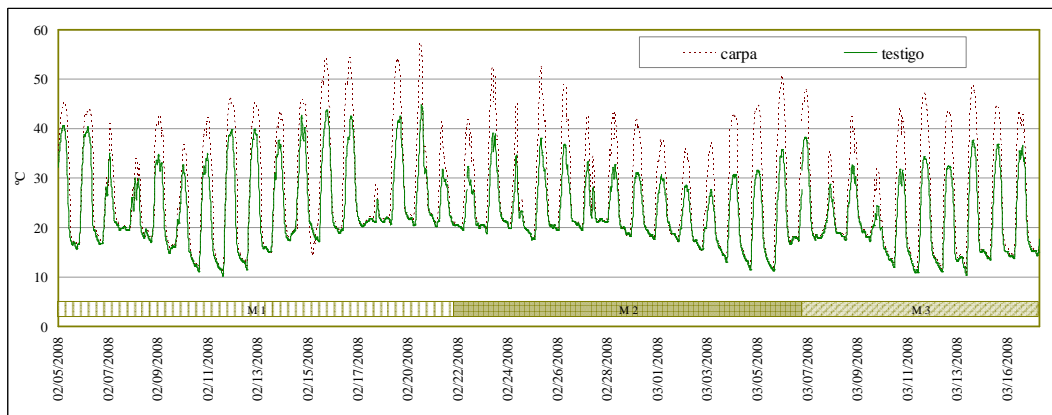


Figura 3.13: Evolución de la temperatura en el interior de la carpa y en el testigo. FS 2: 05/12/07, Rafaela, campaña 2007/08. M1: R5 – R5.5; M2: R5.5 – R6 y M3: R6 – R7.

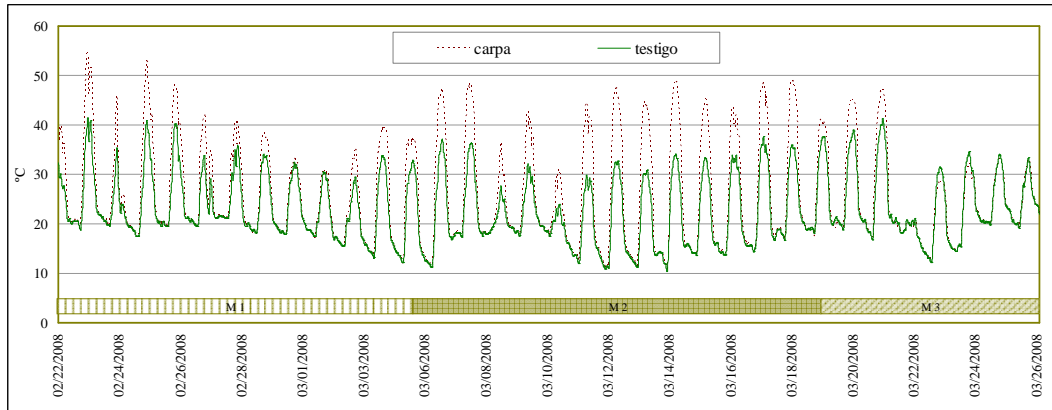


Figura 3.14: Evolución de la temperatura en el interior de la carpa y en el testigo. FS 3: 18/12/07, Rafaela, campaña 2007/08. M1: R5 – R5.5; M2: R5.5 – R6 y M3: R6 – R7.

En lo que respecta a la situación hídrica, en el inicio de la campaña (octubre-noviembre) la oferta total de lluvias fue muy escasa (Figura 3.3), pero ampliamente compensada por el agua útil acumulada en el perfil que para el 28/09/07 fue de 244 mm y para el 7/12/07 fue de 177 mm, hasta 1,5 m de profundidad. Posteriormente, entre diciembre y marzo las lluvias acumuladas fueron superiores a los registros normales para la época (Figura 3.15). Debido a ello, **la disponibilidad hídrica para el cultivo fue**

favorable en la mayor parte de su desarrollo.

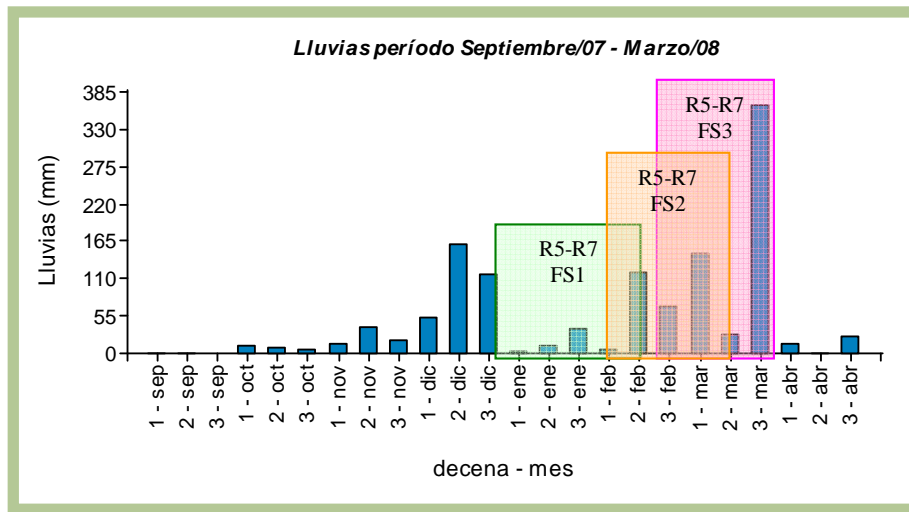


Figura 3.15: Lluvias decadales registradas entre septiembre/07 y abril/08. Se recuadran los períodos de llenado para tres fechas de siembra, siendo FS1: 23/10/07; FS2: 05/12/07 y FS3: 18/12/07. Rafaela, campaña 2007/08.

Bajo las mencionadas condiciones ambientales que, en resumen, mostraron una buena disponibilidad hídrica y situaciones de estrés térmico (acentuado por el uso de las carpas), no se evidenció presencia de grano verde para ninguno de los tratamientos ni para el testigo absoluto (sin carpa y sin riego).

Si bien el análisis de los rendimientos y sus componentes no era parte del objetivo planteado, debido a la falta de respuesta en la aparición de granos verdes y a que se observó un efecto de la temperatura sobre los mismos, se presentan algunos de los resultados obtenidos.

Para el promedio de las tres FS, se constató una disminución del 15% en el rendimiento para las parcelas sometidas al estrés térmico (Figura 3.16), siendo mayor para M1 y M2 (21,7 y 20,0%, respectivamente), que para M3 (6,4%).

Particularmente, en FS1 y FS3 no se produjo interacción entre Momento y estrés térmico ( $p=0,0879$ ) y el efecto de la aplicación del estrés no fue significativo. La FS2, por su parte, mostró interacción estadística entre ambos factores, siendo  $p= 0,0271$ . En esta FS, la disminución en los rendimientos debido al estrés térmico fue significativa cuando el estrés se aplicó en el primero y segundo momento del llenado.

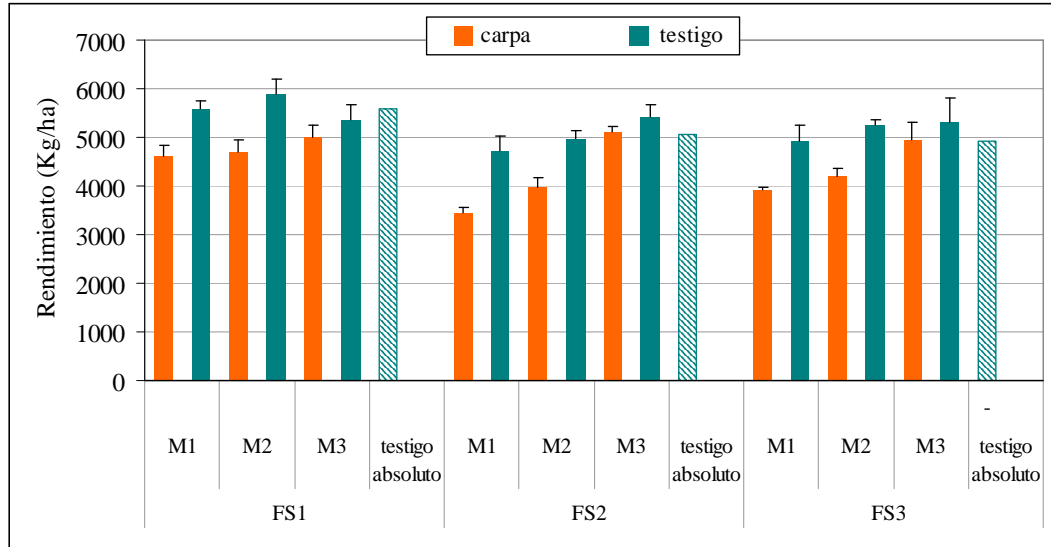


Figura 3.16: Rendimientos de soja DM4200, con y sin estrés térmico acentuado, en tres fechas de siembra y para tres momentos dentro del período de llenado de granos. EEA Rafaela campaña 2007/08. Las líneas sobre las columnas indican el error estándar de la media (n=3).

El rendimiento estuvo inversamente asociado al promedio de las temperaturas diurnas ( $r=-0,5$ ,  $p=0,0005$ ; Figura 3.17) y al promedio de las temperaturas máximas diarias ( $r=-0,6$ ,  $p<0,0001$ ).

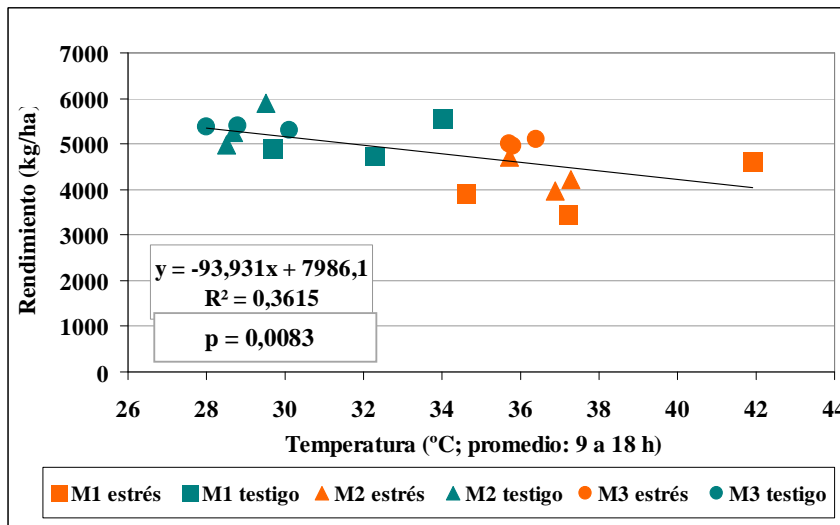


Figura 3.17: Rendimientos de soja DM4200 con y sin estrés térmico acentuado, en relación al promedio de las temperaturas medias diurnas (9-18hs) para tres momentos (M) dentro del período de llenado de granos.

La variación de los rendimientos explicada por el efecto del estrés térmico impactó, a su vez, sobre los componentes. Los coeficientes de correlación de Pearson fueron  $r=-0,36$  ( $p=0,01$ ), para número de granos por metro cuadrado, y  $r=-0,28$  ( $p=0,04$ ) para peso de mil granos (P1000).



El P1000 no fue afectado en M1 pero sí en M2 y M3 (Figura 3.18), mientras que el número de granos fue afectado en M1 y M2 y no en M3 (Figura 3.19).

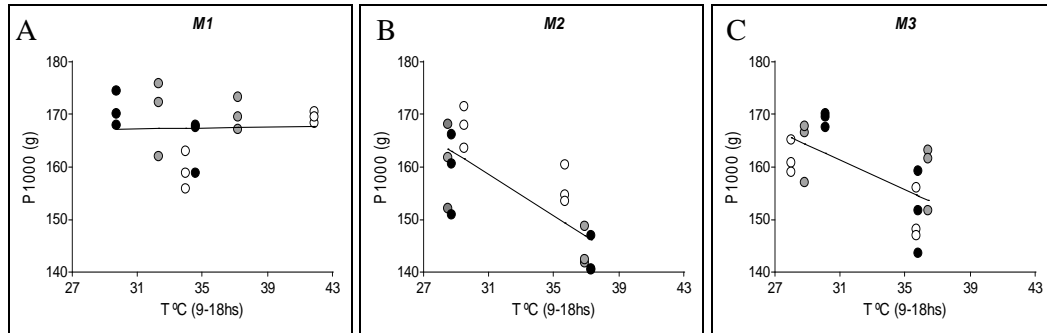


Figura 3.18: Peso de 1000 granos en relación al promedio de las temperaturas diurnas (9 – 18 hs), para tres momentos del llenado. A: momento 1; B: momento 2 y C: momento 3. Símbolos: ○, ◐ y ●, indican FS 1, 2 y 3, respectivamente. Las líneas corresponden a la recta de regresión.

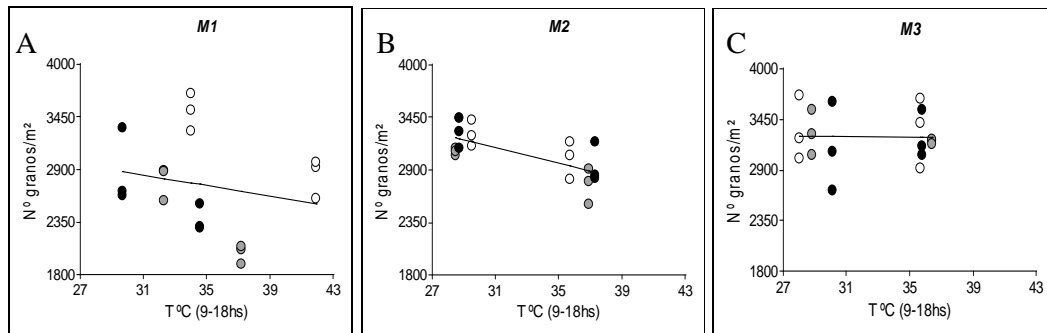


Figura 3.19: Número de granos por metro cuadrado en relación al promedio de las temperaturas diurnas (9 – 18 hs), para tres momentos del llenado. A: momento 1; B: momento 2 y C: momento 3. Símbolos: ○, ◐ y ●, indican FS 1, 2 y 3, respectivamente. Las líneas corresponden a la recta de regresión.

### 3.4.3. Experimento 3: Efecto de la imposición de estrés térmico con baja disponibilidad hídrica. Campaña 2008/09

Si bien el escalonamiento de las siembras tuvo por objetivo hacer coincidir el momento de aplicación del estrés térmico en las tres fechas de siembra, las condiciones ambientales extremas (Capítulo 2, apartado 2.4.2 y Figura 2.3), alteraron la fenología con relación a lo previsto, provocando el acortamiento de algunas fases y lográndose solo una coincidencia bastante alta entre la primera y segunda fecha pero de sólo algunos días en la tercera fecha con relación a las anteriores (Cuadro 3.3).

Cuadro 3.3: Fechas de ocurrencia de los inicios de M1, M2 y M3 y fin de M3 (R7). Soja DM4200, EEA Rafaela, campaña 2008/09. El sombreado indica el período de imposición de estrés térmico mediante carpas de polietileno.

	M 1	M2	M3	Fin M3
FS 1: 17/10/08	18/12/08	01/01/09	15/01/09	28/01/09
FS 2: 03/11/08	09/01/09	19/01/09	06/02/09	25/02/09
FS 3: 24/11/08	02/02/09	12/02/09	24/02/09	14/03/09

Para las dos primeras FS las temperaturas durante el llenado de granos fueron superiores a las registradas en la tercer FS (Figura 3.20). En contraste con la campaña anterior (Experimento 2), no se produjeron eventos térmicos de 40°C o superiores, no obstante, el testigo tuvo temperaturas bastante altas. El período de llenado de granos tuvo temperaturas máximas diarias entre 34,5 y 38,8°C para la FS1, entre 32,9 y 38,8°C para la FS2 y entre 31,3 y 38,4°C para la FS3. Por su parte, la oferta hídrica fue escasa hasta febrero. Como se aprecia en la Figura 3.20, las precipitaciones de importancia, que liberaron del estrés al cultivo, ocurrieron a fines de enero cuando el cultivo de la FS1 se encontraba en R7 mientras que la soja de la FS2 se encontraba finalizando R5.5. Para el caso de la FS3, el cultivo se encontraba transitando el estado de R5.

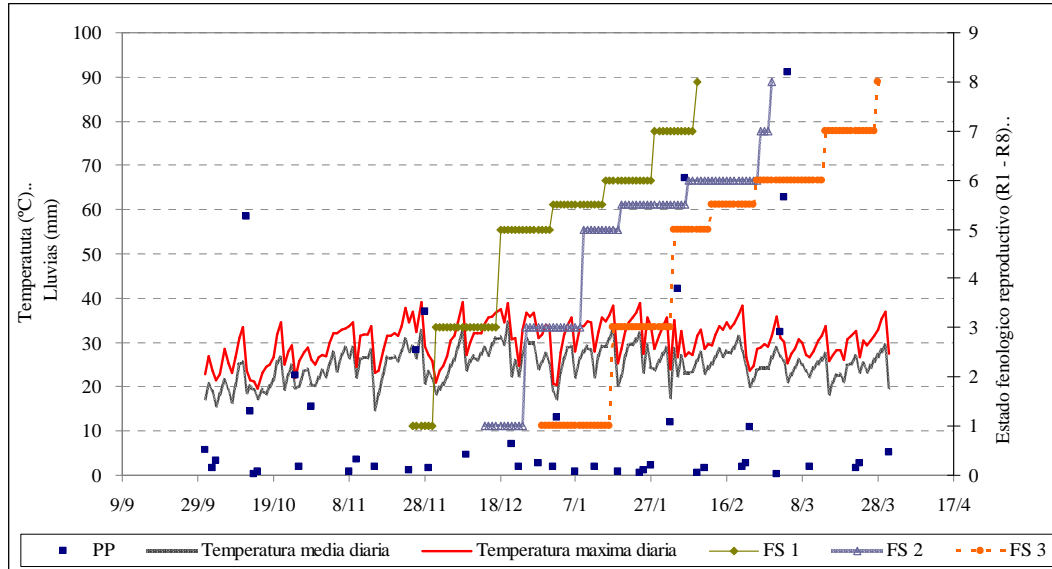


Figura 3.20: Marcha térmica y precipitaciones para Rafaela, período 1/10/08 a 30/03/09 y fecha de inicio y fin de diferentes estados reproductivos de soja DM4200 sembrada en tres fechas (FS1: 17/10/08, FS2: 03/11/08 y FS3: 24/11/08).

El balance hídrico estableció que el cultivo estuvo sometido a estrés hídrico durante todo el ciclo para los tratamientos M2 (en FS2) y M3 (en FS1), mientras que para el M1 (en FS3) el balance se neutralizó a partir del estado R6 (Figura 3.21). Además, para los tres momentos en donde se aplicó estrés térmico acentuado, la soja estuvo en situación de estrés hídrico asociado, aunque para M1 el déficit fue de menor magnitud.

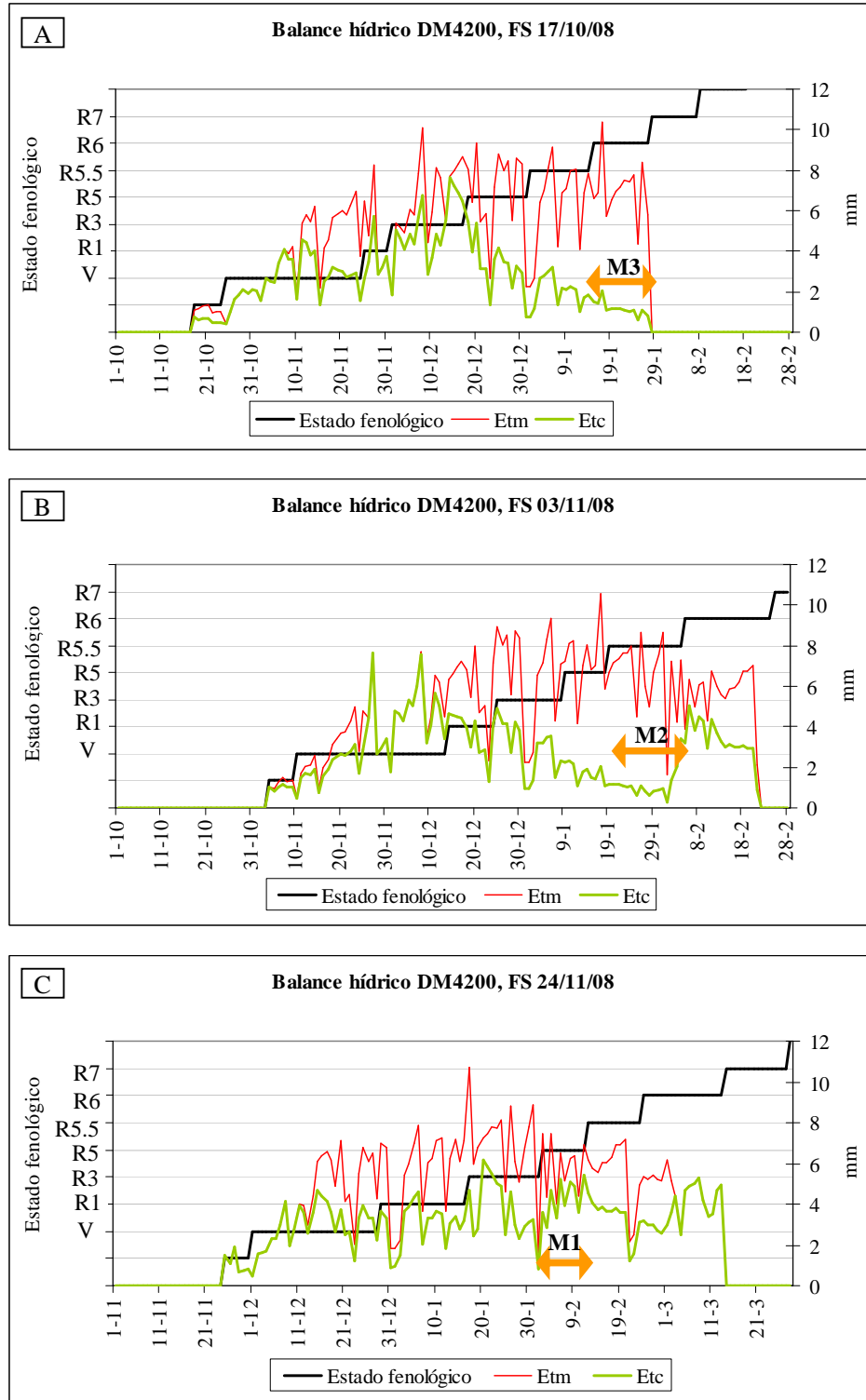


Figura 3.21: Balance hídrico diario para soja DM4200 y su evolución fenológica. A: FS1, B: FS2 y C: FS3. La flecha en doble sentido indica el momento de imposición de estrés térmico.

El empleo de las carpas permitió incrementos de temperatura media promedio para M1, M2 y M3, de 2,7°; 2,7° y 1,8°C, respectivamente, y un valor diferencial de

temperaturas máximas de +7,1°; +6,1° y +9,2° C, para M1, M2 y M3, respectivamente (Figura 3.22), lo cual resultó algo inferior a los incrementos observados en el Experimento 2.

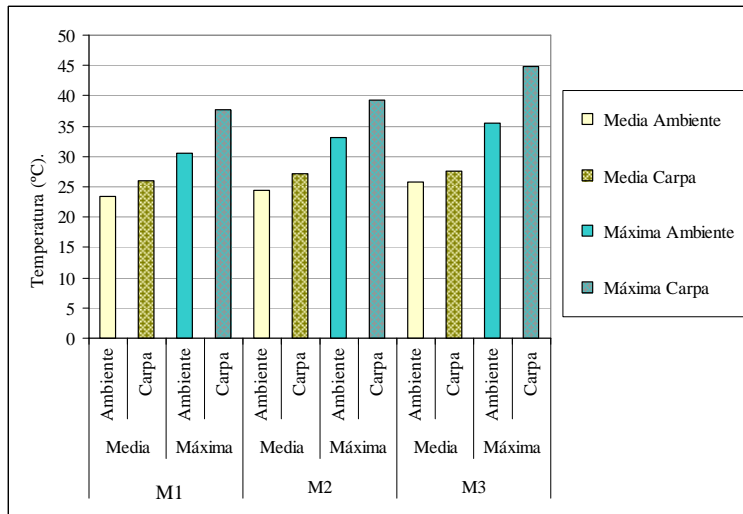


Figura 3.22: Temperatura media y máxima promedio en el testigo (Ambiente) y en el interior de la carpa, para tres momentos (M) del período del llenado. Soja DM4200, Rafaela, campaña 2008/09.

De la misma manera a lo observado en el Experimento 2, hubieron días en que la temperatura bajo la carpa estuvo por encima de los 40°C, incluso episodios de hasta 50°C en el M3 (Figura 3.23), por lo que las plantas sometidas al incremento de la temperatura por la carpa experimentaron **situaciones de estrés térmico** durante el llenado de granos.

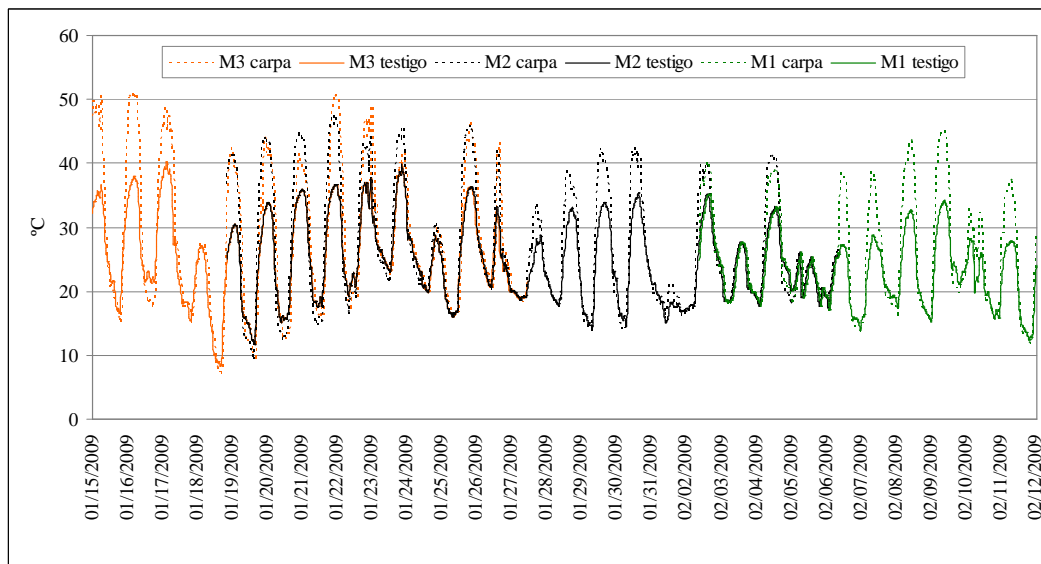


Figura 3.23: Evolución de la temperatura en el interior de la carpa y en el testigo. Rafaela, campaña 2008/09. M3 (FS: 24/11/08); M2 (FS: 03/11/08) y M1 (FS: 17/10/08).

A diferencia de lo ocurrido en el Experimento 2, bajo las **condiciones de elevadas temperaturas y déficit hídrico**, dadas en el presente experimento, fue evidente la **presencia de granos verdes** a la cosecha de la soja, incluso en el testigo sin calentamiento adicional (Cuadro 3.4). No se detectó interacción entre la aplicación del estrés térmico y el momento en que éste fue aplicado. De la misma manera, no hubo efecto debido al incremento de la temperatura por empleo de las carpas. Sin embargo fueron observadas diferencias entre los %GV según los momentos considerados, siendo, en promedio, los tratamientos M2 y M3 mayores que el M1.

Cuadro 3.4: Porcentaje de granos verdes (%GV) según el momento (M) dentro del llenado en que se produjo estrés térmico. EEA Rafaela, 2008/09.

Factor (*)	%GV
Momento	p=0,034
M1	7,98 b
M2	14,02 a
M3	14,32 a
Estrés térmico (carpa)	ns
Con	11,77 a
Sin	12,44 a
Interacción	ns
Promedio	12,10
CV (%)	16,15

Test: LSD Fisher. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ); ns = no significativo. (\*) M1 (FS: 17/10/08); M2 (FS: 03/11/08) y M3 (FS: 24/11/08).

Debido a la dinámica de la oferta hídrica producida durante la presente campaña, se analizó si las diferencias entre momentos estuvieron asociadas a diferencias en la oferta hídrica, dadas por el escalonamiento de las siembras realizadas. Los mayores valores de grano verde se dieron en los tratamientos M2 (FS2) y M3 (FS1). En éstos, las plantas estuvieron durante todo el ciclo bajo condiciones de demandas hídricas insatisfechas, con un total de 284,8 mm y 253,7 mm de déficit, para M2 y M3, respectivamente. Para el caso del M2, el déficit durante el periodo de llenado de granos representó el 63,9% del total, mientras que para el M3 fue un 72,0%. El M1 (FS3) registró un déficit hídrico para el total del ciclo inferior a los anteriores, siendo de 191,6 mm con un 27,6% del mismo durante el llenado (Cuadro 3.5).

Cuadro 3.5: Déficit hídrico (mm) para cada momento del período de llenado en tres fechas de siembra. Soja DM4200, EEA Rafaela, 2008/09.

	Déficit hídrico (mm)		
	Tratamiento M1 (FS3)	Tratamiento M2 (FS2)	Tratamiento M3 (FS1)
Déficit R5 – R5.5	9,2	56,4	47,4
Déficit R5.5 – R6	27,3	87,3	64,0
Déficit R6 – R7	16,4	38,4	71,2
Déficit total ciclo (E –R7)	191,6	284,8	253,7

Al analizar la variación del %GV de acuerdo a la ubicación de las vainas en la planta, no se detectó interacción triple (estrato x tratamiento de estrés x momento), ni doble (estrato x tratamiento de estrés). Por el contrario, resultó significativa la interacción Momento x Estrato ( $p=0,0369$ ) y también cada uno de los efectos individuales (Momento:  $p=0,066$  y Estrato:  $p=0,0436$ ). El mayor %GV se dio en el estrato inferior para M3, mientras que el menor valor estuvo en el estrato superior del M1 (Figura 3.24).

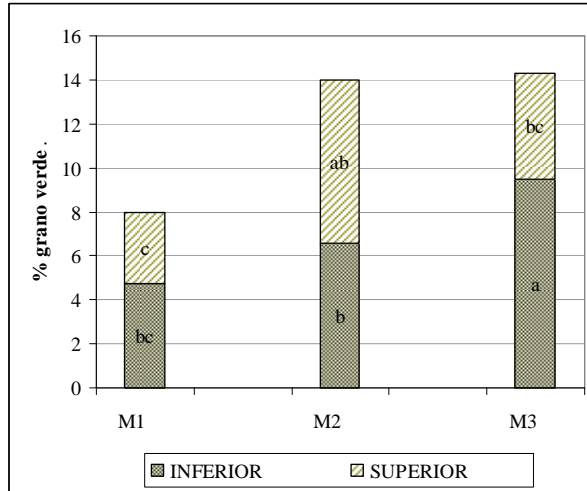


Figura 3.24: Porcentaje de grano verde en soja en dos estratos de la planta y para cada tratamiento (M1, M2 y M3). Soja DM4200, campaña 2008/09. Letras distintas indican diferencias significativas, Test: LSD Fisher,  $\alpha=0,05$ .

Durante el procesamiento de las muestras (trilla manual) pudo apreciarse que dentro de una misma vaina podían coexistir granos con tonalidades diferentes, es decir que, mientras uno de los granos era verde, el o los restantes podían ser de coloración normal amarilla (figura 3.25).

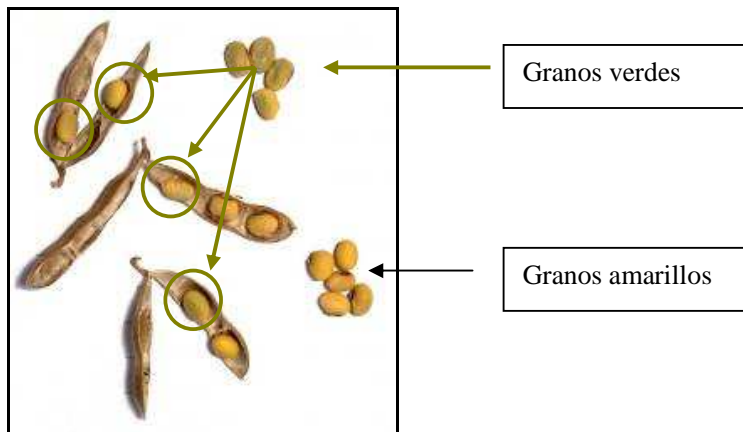


Figura 3.25: Vainas de soja con granos verdes y amarillos. Soja DM4200, campaña 2008/09.

En relación a la extensión de la coloración verdosa (granos totalmente verdes vs. granos parcialmente verdes), no existió interacción entre intensidad del color verde y estrato de la planta. El porcentaje promedio para los dos estratos de granos parcialmente

verdes (9,48%) fue estadísticamente superior al promedio de los totalmente verdes (2,62%). En el Cuadro 3.6 se presentan los valores de %GV para cada estrato y las proporciones de cada tipo de GV.

**Cuadro 3.6:** Proporciones de granos total y parcialmente verdes para cada estrato de la planta. EEA Rafaela, 2008/09.

Estrato de la planta	% GV (x ± sd)	Granos Totalmente Verdes / GV (%)	Granos Parcialmente Verdes / GV (%)
SUPERIOR	5,2 ± 2,6	18,2	81,8
INFERIOR	6,9 ± 3,1	25,1	74,9

De la misma manera que la presencia de granos verdes no fue afectada por el uso de las carpas, el rendimiento y sus componentes numéricos no mostraron diferencias debidas al incremento artificial de la temperatura, para ningún momento del llenado (Cuadro 3.7). En coincidencia con el mayor déficit hídrico durante el llenado, particularmente en la etapa R6-R7 (Cuadro 3.5), el P1000 logrado en M3 (FS1) fue más bajo.

**Cuadro 3.7:** Rendimiento de soja y sus componentes, según el momento (M) dentro del llenado en que se produjo estrés térmico. Soja DM4200, campaña 2008/09.

Factor (*)	vainas/m <sup>2</sup>	granos/m <sup>2</sup>	P1000 (g)	Rendimiento (kg/ha)
Momento	ns	ns	p=0,0455	ns
M1	663,5	1470,0	126,7 a	1818,9
M2	621,7	1312,5	137,5 a	1797,1
M3	592,7	1204,8	87,2 b	1133,0
Estrés térmico (carpa)	ns	ns	ns	ns
Con	596,1	1250,1	118,1	1516,0
Sin	655,8	1408,1	116,1	1650,0
Interacción	ns	ns	ns	ns
Promedio	625,9	1329,1	67,1	1583,0
CV (%)	33,1	34,8	13,5	39,3

Test: LSD Fisher. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ); ns = no significativo. (\*) M1 (FS: 17/10/08); M2 (FS: 03/11/08) y M3 (FS: 24/11/08).

Si bien el rendimiento y el número de granos tendieron a disminuir tanto por la duración del período de estrés hídrico como por la imposición de estrés térmico acentuado durante algún período del llenado, estas reducciones no resultaron significativas debido a que la variabilidad hallada entre las repeticiones fue relativamente grande. Sin embargo, pudo observarse una tendencia: con el aumento del déficit hídrico, ocasionado por las diferentes FS (Figura 3.21), hubo una reducción en los rendimientos y en el número de granos/m<sup>2</sup>, con máximos de 37,7 y 18,0%, respectivamente. Por su parte, el P1000 mostró una reducción significativa ( $p < 0,05$ ) máxima del 36,4%.

La variación de los dos componentes principales del rendimiento explicaron la variación encontrada en este último. El coeficiente de correlación de Pearson fue de

0,91 y 0,77, para número de granos/m<sup>2</sup> y peso de 1000 granos, respectivamente. El rendimiento estuvo asociado negativamente al déficit hídrico durante toda la etapa de llenado, sin embargo, la mejor relación se encontró durante la última etapa (R6-R7) (Figura 3.26).

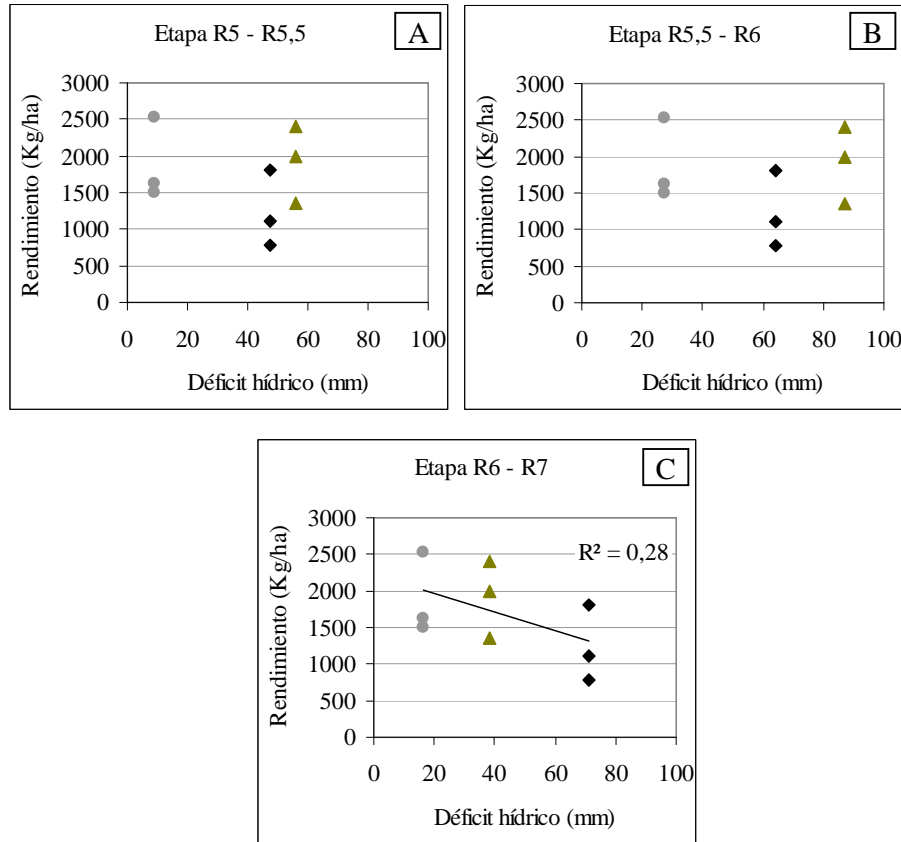


Figura 3.26: Relación entre el rendimiento de grano de soja DM4200 y el déficit hídrico durante las etapas R5-R5,5 (A); R5,5-R6 (B) y R6-R7 (C). EEA Rafaela campaña 2008/09. Símbolos: ●, ▲ y ◆ representan a los tratamientos M1, M2 y M3 respectivamente (tratamientos no calentados).

### 3.4.3.1. Germinación estándar

De la misma manera que lo ocurrido con el %GV y los rendimientos, en la germinación de las semillas no se detectaron diferencias estadísticas producidas por la acentuación del estrés térmico, pero sí hubo diferencias provocadas por el tratamiento Momento, debido a los diferentes periodos de estrés hídrico ya comentados (Cuadro 3.8). Puede notarse cómo la disminución en el %PG de las semillas estuvo relacionada en mayor medida al déficit hídrico en el que tuvieron que desarrollarse los granos, determinadas por el factor “Momento”, que a la presencia de GV de la muestra.

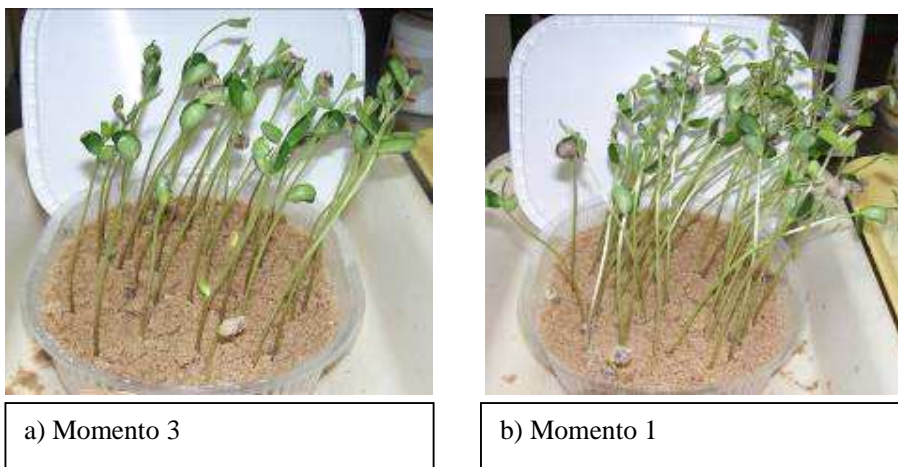


**Cuadro 3.8:** Poder germinativo de la soja para tres tratamientos (Momento) y con o sin acentuación de la temperatura.

Factor (*)	% PG muestra
Momento	P=0,0001
M1	88,4 a
M2	70,7 b
M3	57,8 c
Estrés térmico (carpa)	ns
Con	72,3
Sin	72,3
Interacción	ns
Promedio	72,3
CV (%)	11,5

Test: LSD Fisher. Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ); ns = no significativo. (\*) M1 (FS: 17/10/08); M2 (FS: 03/11/08) y M3 (FS: 24/11/08).

A modo de ejemplo, se presentan dos imágenes en las que puede apreciarse cómo una muestra que provino de plantas crecidas en un ambiente más estresante tuvo un menor número de plántulas emergidas (Figura 3.27).



**Figura 3.27:** Bandejas resultantes del ensayo de germinación, a) Momento 3 y b) Momento 1. Rafaela, campaña 2008/09.

### 3.5. DISCUSIÓN

En este estudio se comprobó que con el empleo de las carpas de polietileno sobre el canopeo de la soja creciendo a campo puede conseguirse un incremento de la temperatura. Resulta claro, entonces, que éstas constituyen una herramienta adecuada para este tipo de ensayos. De la misma manera, otros autores usaron este sistema para exponer a condiciones de estrés térmico al cultivo de soja (Molino *et al.*, 2007 y 2008) o de maíz (Cicchino *et al.*, 2010 a y b; Rattalino *et al.*, 2011). Sin embargo, se considera conveniente, para este tipo de experimentos, incluir calventores termostatzados para elevar la temperatura cuando los días son nublados, tratando de evitar las diferencias de

temperatura entre períodos o la aparición de picos divididos en los registros de temperatura para un mismo día.

Los hallazgos del Experimento 2, en el que no se evidenció presencia de grano verde cuando las condiciones fueron de buena disponibilidad hídrica y con registros térmicos elevados y acentuados por el uso de las carpas, demostraron que las elevadas temperaturas *per se* no serían responsables de la presencia de GV cuando existe agua disponible para las plantas. Resultados similares fueron reportados por Pádua *et al.* (2009 a), quienes mencionan que bajo situaciones de estrés térmico (28° C a 36° C) y adecuada disponibilidad hídrica no observaron presencia de grano verde, aunque la información mencionada proviene de ensayos realizados en cámaras de crecimiento. Por esa razón, los aportes del presente estudio confirman esa evidencia pero en condiciones de campo.

En situaciones de buena disponibilidad hídrica, podría suponerse que las plantas de soja lograron disminuir el impacto de las altas temperaturas a través del proceso transpiratorio. Hasegawa y Locy (2002), mencionan que la transpiración es elevada cuando el cultivo crece en ambientes de disponibilidad hídrica alta, disipando el calor a través de dos mecanismos: pérdida de calor sensible y evaporación. En este sentido, se han reportado altas tasas transpiratorias asociadas a temperaturas frescas de la canopia en cultivos de girasol (Rachidi *et al.*, 1993) y de trigo (Fischer *et al.* 1998), y también en tallos de plántulas de pino ponderosa (Kolb and Robberecht, 1996).

En el Experimento 3, a diferencia de lo ocurrido en el Experimento 2, el ensayo se realizó bajo condiciones de elevadas temperaturas en la condición Testigo (ambiente) que fueron acentuadas por las carpas, sumada a situaciones de déficit hídrico severo. En estas circunstancias, fue evidente la presencia de granos verdes en la cosecha de la soja. Resultados similares fueron reportados por Pádua *et al.* (2009 b), quienes informaron que cuando las plantas estuvieron sujetas a partir de R6 a severos déficits hídricos asociados a elevadas temperaturas (28°C a 36°C), se detectó una alta incidencia de semilla verde. Nuevamente, el mencionado trabajo se efectuó en plantas crecidas en invernadero y llevadas a cámara de crecimiento a fin de exponer el estrés térmico, mientras que en el presente estudio, trabajando en condiciones de campo, se evidenciaron resultados similares.

De acuerdo a las condiciones imperantes en esta campaña (Apartado 2.4.2 de esta tesis), sumado a la imposición de estrés térmico en algunos momentos (apartado 3.4.2 y Figuras 3.11 a 3.13), puede decirse que durante el período de llenado el cultivo estuvo expuesto a elevadas temperaturas tanto en el tratamiento con incremento artificial de la temperatura como en el testigo (ambiente). Es conocido que el estrés hídrico limita la transpiración de las plantas, por lo que las hojas se calientan (Hasegawa and Locy, 2002), ya que estaría limitada una adecuada refrigeración de la planta a través del proceso transpiratorio. Además, debido a los efectos de la transpiración sobre la temperatura foliar, el estrés hídrico y el estrés por temperatura están estrechamente relacionados (Hasegawa and Locy, 2002).

En ninguno de los dos últimos experimentos pudo identificarse el efecto de la temperatura como responsable de la aparición de grano verde. Para el caso del Experimento 2, debido a la buena disponibilidad hídrica y en el caso del Experimento 3, debido a las altas temperaturas y al déficit hídrico severo. En otras palabras, no se tuvieron temperaturas lo suficientemente bajas como para obtener un contraste fuerte en esta variable. Por estos motivos, no fue posible identificar fehacientemente el momento del desarrollo del grano en el cual un estrés por elevada temperatura sería crítica en la

determinación de grano verde. Sin embargo, en el experimento 3.3, se constató mayor presencia de granos verdes en las primeras dos fechas de siembra con relación a la tercera. Ambas fechas expusieron el período de llenado a condiciones de estrés hídrico-térmico, principalmente a partir de R5.5, mucho más intenso que la tercera fecha de siembra. En el caso de la primera fecha (M3) el estrés se acentuó hacia el final del llenado mientras que en la segunda fecha (M2) el estrés más severo ocurrió entre R5.5 y R6, pero no se revirtió totalmente hacia el final del ciclo. Ambas fechas presentaron %GV similar, sugiriendo que, bajo condiciones de estrés intenso, no existiría una relación estrecha entre la intensidad del estrés en un determinado momento del ciclo y la presencia de grano verde. Sin embargo, de acuerdo a las evidencias encontradas, tanto en el Capítulo 2 como en el presente, los granos verdes se producen en situaciones de elevadas temperaturas asociadas a estrés hídrico durante el crecimiento de los granos, siendo particularmente importante el ambiente en las últimas etapas del llenado.

En el Experimento 3, además de evaluar el %GV, se realizaron observaciones en detalle, por lo cual se consideró la posición de la planta en que se encontraban los GV. Las evidencias halladas sugieren que no existe una relación entre presencia de grano verde y el estrato de planta considerado. De la misma manera, Pádua *et al.* (2009 a), no encontraron diferencias significativas en la cantidad de GV de los estratos superior, medio e inferior de plantas de soja sometidas o no a estrés hídrico, térmico o térmico-hídrico, en ensayos realizados en maceta.

Al respecto, los hallazgos de este trabajo y los mencionados por Pádua *et al.* (2009 a), se contraponen a los dichos de Astegiano *et al.* (2006), quienes percibían que las vainas que presentan granos verdes estarían preferentemente en los nudos superiores de las plantas por estar más expuestas a un proceso de rápida desecación, pero esta afirmación nunca fue corroborada rigurosamente por los autores.

Por su parte, para la cosecha de la región Alto Garças en Brasil, França Neto *et al.* (2005), constataron en la campaña 2002/03, mayor %GV en el tercio inferior (21,2%) en relación al tercio medio (13,9%) y superior (3,5%), cuando las plantas de soja mostraron una muerte prematura debido a fusariosis de la raíz.

Para Zorato y Watanabe (2006), los granos verdes aparecen aleatoriamente en la planta o en las vainas y pueden presentar diversos matices del color verde. En concordancia, en el presente estudio se observaron vainas en las que coexistían granos con tonalidades diferentes, es decir, mientras uno de los granos presentaba alguna tonalidad verde, el o los restantes podían ser de coloración normal.

Dentro de una vaina de soja los granos pueden transitar distintos momentos de su desarrollo (Casini *et al.*, 1997, Salinas, *et al.*, 2004) y, por lo tanto, el efecto causado por un mismo estrés podría resultar diferente. De todos modos, si bien no es posible detectar un patrón definido, este resultado es interesante porque sugiere alguna sensibilidad diferencial que valdría la pena explorar en estudios posteriores.

Cuando los granos verdes fueron divididos en dos grupos, considerando aquellos con más de 80% de su superficie verde como “totalmente verdes” y al resto como “parcialmente verdes”, pudo comprobarse que la mayoría de los GV quedaban incluidos en el grupo “parcialmente verdes”. Es importante destacar que debido a la norma de comercialización vigente (Apéndice I, Cuadro 1), se considera la totalidad de los granos verdes, independientemente de la superficie verde o tonalidad observada a fin de realizar los descuentos proporcionales.

Con referencia a la respuesta observada sobre el rendimiento y sus componentes, no se pudo constatar reducciones debidas al incremento de temperatura por el uso de las carpas, en términos estadísticos. De todos modos, en los Experimentos 2 y 3 se encontró una tendencia clara a la disminución de dichas variables, debido a la temperatura. Cabe recordar que el rendimiento promedio obtenido por la variedad en análisis (DM4200), fue relativamente bajo en el Experimento 3, en comparación al alcanzado en el Experimento 2, de la campaña previa, siendo 1583,0 *versus* 4838,9 kg/ha, respectivamente, lo que refleja la sequía extrema por la que atravesó el cultivo.

Debido a que el período crítico comienza luego de R1 (Egli, 1997) y el final del mismo se estima que finaliza 10 o 12 días después de R5 (Board and Tan, 1995) o que puede prolongarse hasta R6 (Egli, 1997), resultó importante realizar un análisis de los hallazgos en este estudio.

Particularmente, en el Experimento 2 el P1000 no fue afectado en M1, pero sí en M2 y M3, mientras que el número de granos por metro cuadrado fue afectado en M1 y M2 y no en M3. En este sentido, Baigorri (1997), menciona que el período R5 – R5.5, es especialmente crítico ya que la capacidad de compensación se reduce porque existe riesgo de aborto de vainas pequeñas; entre los estados R5.5 y R6, condiciones de estrés pueden causar grandes pérdidas de granos, por reducciones en el número de vainas por planta y semillas por vaina y en menor medida por el peso de semilla y que entre R6 y R6.5 el estrés puede causar grandes pérdidas de rendimiento, en especial por reducción en el tamaño de la semilla. A partir de ese momento, las pérdidas serían menores, ya que las semillas han alcanzado la mayor parte de su peso seco. En el mismo sentido, Andriani *et al.* (1991), encontraron que estreses producidos durante la etapa R4 – R6 reducen el número de granos y que a partir de R6, las reducciones en el rendimiento obedecen a un menor crecimiento de éstos.

En el Experimento 3 el peso de 1000 granos tuvo una marcada disminución en la fecha más temprana (M3) y, aunque los valores para fecha 2 (137,5 g) y fecha 3 (126,7 g) resultaron estadísticamente superiores, no alcanzaron el valor normal registrado para la variedad utilizada (150 g, en el promedio de varias campañas, datos propios de la RECSO del INTA Rafaela). La disminución del peso de 1000 granos estuvo asociada evidentemente a las mayores condiciones de estrés térmico-hídrico que sufrió el cultivo durante el ciclo. Las condiciones resultaron más extremas en la FS1, ya que el estrés se acentuó a medida que progresó el ciclo.

Otro análisis realizado a las muestras de semillas del Experimento 3 fue el del poder germinativo, detectándose, como en muchas de las variables analizadas, la falta de interacción entre los efectos Momento y Estrés térmico, y que la temperatura acentuada por la carpa no produjo ningún efecto.

La disminución en el %PG de las semillas estuvo relacionada con el déficit hídrico en el que tuvieron que desarrollarse los granos sobre todo en la etapa R6 – R7 más que a la presencia de GV. Esto se aprecia al comparar los cuadros de %GV, de déficit hídrico por etapas y de %PG (Cuadros 3.4, 3.5 y 3.7). Así, un incremento del 85,4% en el déficit hídrico en dicha etapa significó un aumento de 0,3% de granos verdes, mientras que la disminución en el poder germinativo fue de un 18,2%, siendo esta diferencia significativa.

En este sentido, algunas evidencias demuestran que los déficits hídricos en llenado causan disminuciones de la capacidad germinativa de las semillas de soja (Smiciklas, *et al.*, 1992). De la misma manera, en el trabajo realizado por Pádua *et al.*

(2009 a), los menores porcentajes de germinación fueron obtenidos en semillas de plantas que estuvieron expuestas a déficit hídrico a partir de R6.

### 3.6. CONCLUSIONES

- 3.6.1. Las elevadas temperaturas durante algún momento del período de llenado de granos de soja, no sería determinante de la aparición de granos verdes si el cultivo se desarrolla bajo condiciones hídricas no estresantes.
- 3.6.2. El déficit hídrico prolongado y persistente durante el período de llenado de granos fue conducente para la manifestación de granos verdes a la cosecha de la soja, en ambientes con alta temperatura.
- 3.6.3. La ocurrencia de elevados porcentajes de GV, se dieron en situaciones térmico-hídricas estresantes a partir del estado reproductivo de R5.5 del cultivo.
- 3.6.4. El incremento de la temperatura en algún momento del periodo de llenado no produjo efectos sobre el %PG, bajo las condiciones hídricas estresantes del Experimento 3.
- 3.6.5. El estrés por elevadas temperaturas durante el llenado de los granos disminuyó el rendimiento del cultivo de soja, aún bajo condiciones de buena disponibilidad hídrica
- 3.6.6. La exposición a temperaturas altas entre R5 y R6 redujo, el número de granos por unidad de superficie mientras que el estrés térmico a partir de R6 provoca una disminución en el peso de los granos.

## CAPÍTULO 4

### LONGEVIDAD POTENCIAL DE LOTES DE SEMILLA DE SOJA CON GRANO VERDE

#### 4.1. INTRODUCCIÓN

El grano verde causa problemas tanto para la industria aceitera como para los productores de semilla. En estos casos, la presencia de clorofila se transforma en un parámetro negativo, tanto para la agricultura como para la industria.

La calidad fisiológica de un lote de semillas implica que las simientes cumplan con la condición indispensable de viabilidad. Semillas de elevada calidad poseen una gran connotación socio-económica debido a que proveen la mayoría de nuestro alimento y constituyen el recurso más importante en la alimentación animal y en la agroindustria.

La relación entre la presencia de clorofila y la maduración de la semilla fue estudiada en soja por Scheeren y Tolentino (2005) y Gallo (2008), quienes evaluaron la calidad fisiológica de las semillas con diferente coloración de tegumento determinando el poder germinativo y vigor. Estos autores concluyeron que las semillas de coloración verde poseen una calidad fisiológica inferior a las semillas de coloración amarilla y además, presentan una mayor tasa de deterioro.

En concordancia, Zorato *et al.*, (2007) estudiando la calidad fisiológica de simientes de soja de lotes con distinta proporción de semillas verdes, concluyeron que la presencia de clorofila es indicativo de la reducción del potencial fisiológico (Germinación y Vigor) en simientes de soja. En el mismo sentido, en un trabajo realizado en nuestro país, se observó que la calidad fisiológica de las semillas verdes fue inferior al presentar reducciones en los atributos de calidad como la viabilidad, la germinación y el vigor (Gallo *et al.*, 2008 a). En este último trabajo, se identificó mediante la prueba de Tetrazolio, que las semillas verdes presentaron defectos originados por el ambiente, identificados por la presencia de fuelles, o bandas de tejido muerto y por tejido de coloración verde visible al finalizar el período de tinción.

Costa *et al.*, (2001) estudiaron en tres cultivares brasileños de soja, con índices de 0, 10, 20, 30 y 100% de grano verde, si la calidad fisiológica (i.e. germinación, vigor, longevidad) de este tipo de granos se alteraba con respecto a la de los granos normales. Estos autores encontraron que lotes de semilla con porcentajes superiores al 10% de grano verde tenían alterada la calidad fisiológica y que, a medida que aumentaba el porcentaje de grano verde se reducía el vigor y la viabilidad de las semillas. Resultados similares fueron reportados por Medina *et al.* (1997) y por Zorato *et al.* (2003). Estos últimos encontraron además, un menor potencial de almacenamiento de la semilla verde de soja (i.e. longevidad).

En nuestro país, Gallo *et al.* (2006), evaluaron la calidad fisiológica de seis lotes de soja que presentaron 2, 3, 4, 5, 20 y 65% de semilla verde, y constataron que aquellos con contenidos de semilla verde inferiores al 5% mostraron los mayores valores de germinación y vigor y sugirieron que con valores superiores al 5% de semilla verde se afecta la calidad del lote al punto tal de que se descarte su uso como simiente.

Estudios más detallados fueron realizados por Pádua *et al.* (2005 y 2007), quienes trabajando con 2 cultivares de soja y con 12 porcentajes distintos de semilla verde (0, 3, 6, 9, 12, 15, 20, 30, 40, 50, 75 y 100 %) advirtieron que los índices de

deterioro por humedad están directamente relacionados con los porcentajes de semilla verde y que existe una reducción lineal de la viabilidad, de la germinación y del vigor de la semilla en relación con el aumento de la proporción de semilla verde del lote. En este trabajo resultó evidente que la semilla verde, por presentar mayor lixiviación de solutos, presenta sus sistemas de membranas desorganizados, fruto de la maduración forzada y de la muerte prematura de las plantas. Se concluyó entonces, que los lotes de semilla de soja sometido a estreses ambientales durante la fase de maduración y precosecha y que presentan más del 9% de grano verde, no deberían ser utilizados para simiente.

En el mismo sentido, Gallo *et al.* (2008 b) analizaron muestras con 5 niveles de semilla verde (0, 6, 10, 16 y 20%) evaluando diferentes pruebas fisiológicas de calidad y determinaron que el nivel máximo de tolerancia de semillas verdes que puede ser aceptado en un lote de semillas destinado a simientes podría ser establecido en 16%.

De todas maneras, estos resultados deberían ser confirmados utilizando metodologías que inequívocamente demuestren que la presencia de grano verde afecta la capacidad de almacenaje de las semillas. Durante el almacenamiento, el deterioro fisiológico de los granos de cualquier especie se produce inexorablemente. Este deterioro implica la caída de viabilidad del lote a lo largo del período de almacenaje que depende para cada especie de las condiciones del almacenamiento pero también de la **longevidad potencial del lote (Ki)**. Este último parámetro es propio de cada lote y considera la viabilidad inicial y el tiempo hasta que comienza el deterioro y la pérdida de viabilidad de la semilla (Sánchez *et al.*, 2008). La presencia de semillas verdes en un lote puede ocasionar la reducción de la longevidad potencial del mismo, y entonces disminuir su almacenabilidad.

La prueba regular de germinación no es suficientemente sensible para detectar diferencias fisiológicas entre lotes de semillas. Una de las pruebas de vigor para predecir la almacenabilidad es la conocida como técnica del envejecimiento artificial o envejecimiento acelerado (EA). Este test es reconocido como uno de los más empleados para evaluar el potencial fisiológico de varias especies de semillas (Tekrony, 1995; citado por Janmohammadi *et al.*, 2008) y se ha convertido en un indicador del vigor de la semilla de uso común en la mayoría de los cultivos. En este test se expone a las semillas a elevadas temperaturas (40-45°C) y elevada humedad relativa (>95% HR) por 48 a 96 hs antes del test de germinación (Bennett, 2002), lo cual se denomina Test de Envejecimiento Acelerado Estándar. Sin embargo, el test de EA fue desarrollado para determinar el potencial de almacenamiento de las semillas.

En este sentido, la metodología del envejecimiento acelerado seguido del análisis de los datos mediante el uso de la ecuación de viabilidad (Ellis y Roberts, 1980), permite determinar el parámetro **Ki** que corresponde a la **longevidad potencial del lote** y que serviría para demostrar si existe una asociación cuantitativa entre el porcentaje de grano verde y el tiempo por el cual las semillas pueden ser almacenadas sin que se esperen reducciones marcadas en su viabilidad.

## 4.2. OBJETIVO

Determinar si la presencia de grano verde afecta el tiempo de almacenaje del lote de semillas. En particular, establecer una relación cuantitativa entre el porcentaje de grano verde y la longevidad potencial (**Ki**) del lote de semillas.

### 4.3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 4.3.1. Estimación de la longevidad potencial en lotes con presencia de semilla verde

La estimación de la longevidad potencial (**Ki**), que se desprende de la ecuación de viabilidad, se realizó en muestras de semilla de soja con diferentes niveles de porcentaje de granos verdes y se estableció una relación cuantitativa entre la incidencia de granos verdes que presenta un lote de semillas de soja y su longevidad potencial.

Utilizando semilla de soja del cultivar DM4200 (cosecha 2009), se armaron muestras artificiales constituidas por 50 semillas que contenían seis niveles de semilla verde (0, 6, 10, 16, 30, y 100% GV) y dos repeticiones. A las muestras se les realizó la prueba de germinación estándar y el envejecimiento acelerado considerando seis periodos de almacenamiento (24, 48, 72, 120, 168, y 240 horas).

Las semillas con tonalidad verde se separaron manualmente del resto de la masa de semillas. La identificación de las semillas verdes se realizó de manera visual. Para la construcción de las muestras no se tuvieron en cuenta las semillas verdes que son fácilmente separadas durante el acondicionamiento, es decir, aquellas semillas con abolladuras o muy arrugadas, ya que pueden ser fácilmente apartadas del lote de simientes usando máquinas especiales.

Como el contenido de humedad de las semillas al momento de iniciar la prueba de Envejecimiento Acelerado puede afectar los resultados del análisis, las Reglas ISTA (2003) describen los métodos que se deben utilizar para aumentar o disminuir el contenido de humedad de las simientes de manera de alcanzar valores entre 10 y 14%. En las muestras utilizadas en estos experimentos, los valores de humedad de la semilla, medidos con un higrómetro HD1021J marca Delver®, eran inferiores al 10%. Por este motivo se procedió a elevar la humedad de las semillas. Para ello las semillas se pesaron con balanza analítica de 0,01 g (Swiss Quality, modelo PJ Precisa 500C) y luego se colocaron en rollos de papel toalla humedecidos durante un periodo de cinco minutos. Finalizado el tiempo de imbibición, las semillas se pesaron en balanza digital y se calculó el contenido de humedad alcanzado empleando la ecuación propuesta por ISTA (1), dando un valor de 14%.

$$\text{Peso.final.de.las.semillas} = (\text{peso.inicial}) \times \left( \frac{100 - \text{contenido.de.humedad.inicial}}{100 - \text{contenido.de.humedad.final}} \right) \quad (1)$$

Para la prueba del Envejecimiento Acelerado se utilizó el método de las mini cámaras (ISTA, 1995 b). Las minicámaras fueron cajas plásticas transparentes con tapa de 7,5 cm x 13 cm x 4 cm. En el interior de las minicámaras se colocaron 10 ml de agua deionizada. Dentro de la caja se colocó una malla plástica sostenida por soportes para separar las semillas del agua (Baskin, 1977). Sobre la malla plástica las 50 semillas fueron distribuidas uniformemente a fin de asegurar que todas absorbieran humedad homogéneamente. Las minicámaras se taparon y se colocaron en estufa (Científica Central, Jacobo Rapaport S.A., Modelo 6040) regulada a 41°C durante los seis periodos de almacenamiento. Finalizado cada período de envejecimiento, a las semillas se les efectuó la prueba de germinación estándar, a fin de evaluar la viabilidad a través del porcentaje final de germinación alcanzado.

La evaluación de plántulas se realizó siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 3.3.3.1. Con los datos de germinación en función del tiempo de



almacenamiento se construyeron curvas de supervivencia para cada nivel de porcentaje de granos verdes. Los valores de viabilidad fueron transformados a escala Probit y relacionados con el tiempo de envejecimiento acelerado, determinándose el valor de longevidad potencial ( $K_i$ ) como la ordenada al origen de cada relación (Ellis and Roberts, 1980). En el Apéndice V se muestra un esquema de esta transformación, detallando el funcionamiento de los términos de la ecuación de viabilidad.

#### 4.3.2. Capacidad de almacenaje de lotes con semilla verde

Como ejemplo de aplicación de la ecuación de viabilidad se determinó el período en el cual las semillas pueden almacenarse de manera de obtener simiente con viabilidad igual al 80%.

$$\text{Ecuación de viabilidad} \quad K_f = K_i - \frac{p}{10^{KE-CW \cdot \log(\text{Hum})-CH \cdot T-CQ \cdot T^2}}$$

Donde:

- $K_f$  = germinación (probit) después del almacenaje por  $p$  días
- $K_i$  = viabilidad potencial (probit)
- Hum = contenido de humedad de la semilla (%)
- $T$  = temperatura en °C
- **$p$  = período de almacenaje en días**
- $KE$ ,  $CW$ ,  $CH$  y  $CQ$  = constantes específicas para cada especie.

Las constantes de la ecuación para la soja corresponden a 7,748; 3,979; 0,053 y 0,000228 para  $KE$ ,  $CW$ ,  $CH$  y  $CQ$ , respectivamente (Kruse *et al.*, 2005).

## 4.4. RESULTADOS

### 4.4.1. Longevidad potencial

Las curvas de supervivencia de muestras de semillas con diferentes niveles de grano verde se presentan en la Figura 4.1. Estas curvas surgen de graficar los datos de germinación en función del tiempo de almacenamiento bajo condiciones de envejecimiento acelerado.

A partir de las 168 h (7 días) de envejecimiento, la germinación de todas las muestras fue nula. Es por ello que puede establecerse este período como tiempo límite para la realización de este tipo de ensayos en semillas de soja de este cultivar almacenadas bajo condiciones de humedad y temperatura mencionadas.

A las 24 h de almacenamiento, sólo los lotes sin presencia de grano verde mantuvieron una viabilidad similar a la inicial. Por el contrario, los lotes con 30 % o más de grano verde presentarían los mayores problemas ya que partieron de valores más bajos de poder germinativo (Figura 4.1). Además, la mayor diferencia entre los lotes se observó en relación al tiempo que tardaron las semillas en comenzar a deteriorarse aunque, una vez comenzado el proceso de manera evidente, todos los lotes se deterioraron con una tasa parecida.

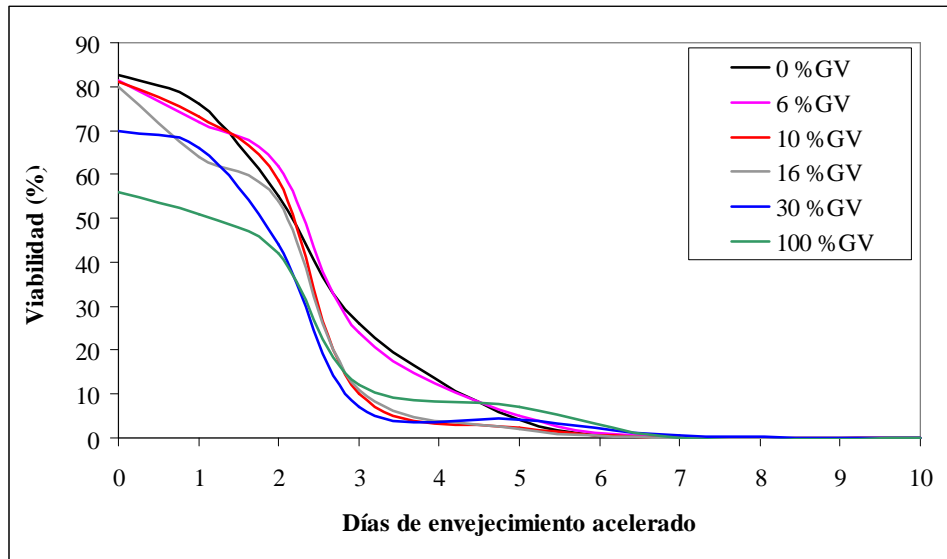


Figura 4.1: Evolución de la viabilidad en porcentaje a lo largo del período de envejecimiento acelerado en lotes de soja DM4200 con distintos niveles de %GV.

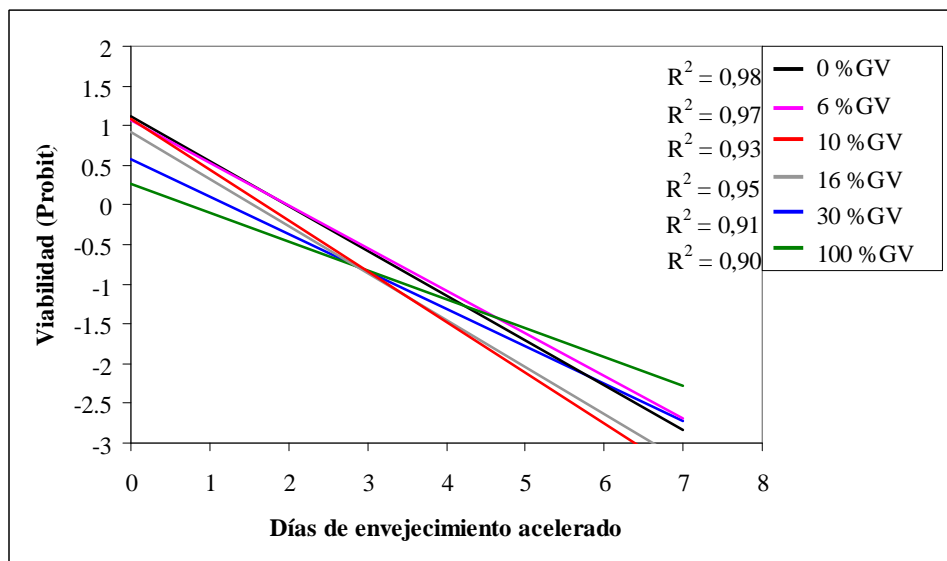


Figura 4.2: Evolución de la viabilidad en escala Probit a lo largo del período de envejecimiento acelerado en lotes de soja DM4200 con distintos niveles de grano verde.

Los valores de germinación, fueron transformados a escala Probit (Figura 4.2) y relacionados con el tiempo de envejecimiento acelerado. Para cada relación ajustada, la ordenada al origen representa el valor de longevidad potencial ( $K_i$ ). En lotes con presencia de grano verde la longevidad potencial ( $K_i$ ) fue menor que en el lote sin GV (Figura 4.2). Sin embargo, el valor de  $K_i$  cayó mucho más drásticamente en los lotes con contenidos de semilla verde iguales o mayores a 30%.

Los valores del poder germinativo estándar, del test de envejecimiento acelerado estándar (PEA: PG% a 48 h de envejecimiento) y de  $K_i$  (valores probit), se presentan en el Cuadro 4.1. El incremento en contenidos de granos verdes en lotes de soja destinado

para simiente redujo los valores de germinación ( $r = -79$ ) y de longevidad potencial ( $r = -78$ ).

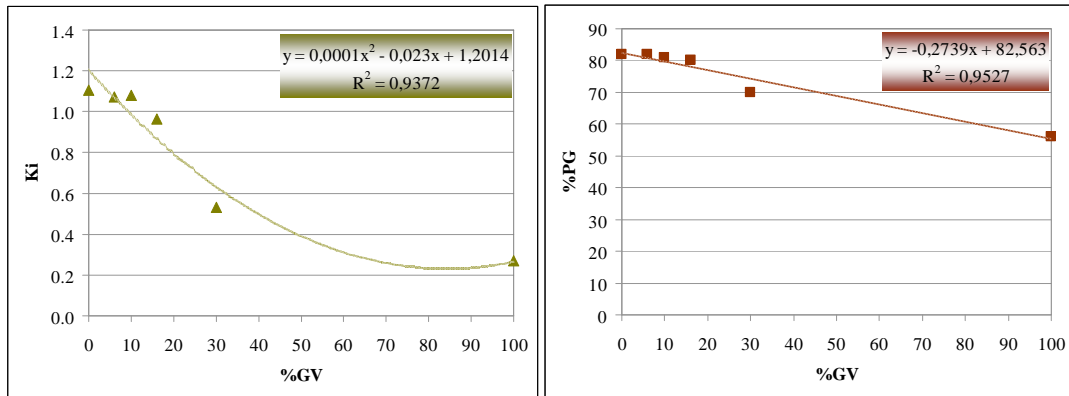
**Cuadro 4.1:** Poder germinativo (PG%), Prueba de envejecimiento acelerado (PEA: PG% a 48 h de envejecimiento) y Longevidad potencial (Ki) en muestras de semilla de soja con distintos niveles de grano verde (% GV).

% GV	PG (%)	PEA (PG%)*	Ki
0	82 a	54 b	1,10 a
6	82 a	62 a	1,07 a
10	81 a	58 ab	1,08 a
16	80 a	54 b	0,96 ab
30	70 ab	44 c	0,53 b
100	56 b	42 c	0,27 b

\* Prueba de Envejecimiento Acelerado estándar (48hs)

Letras distintas indican diferencias significativas (LSD de Fisher;  $p \leq 0,05$ ).

El análisis de regresión lineal (Figura 4.3) constató la marcada diferencia entre usar uno y otro parámetro para interpretar la calidad del lote de semillas. En ese sentido, cuando se pasa de 16 % a 30 % de grano verde, el poder germinativo inicial se reduce un 5%, mientras que el Ki se reduce un 30%. Cuando se pasa de 30% a 50 % de grano verde, el %PG cae un 7% y el Ki se reduce en un 50%.



**Figura 4.3:** Longevidad potencial **Ki** (A) y **%PG** (B) en función del porcentaje de grano verde (**%GV**) en lotes de soja DM4200. Rafaela 2008/09.

#### 4.4.2. Capacidad de almacenaje

Como ejemplo de aplicación de la ecuación de viabilidad se determinó el período por el cual las semillas pueden almacenarse de manera de obtener simiente con viabilidad igual al 80% (Cuadros 4.2 y 4.3).

**Cuadro 4.2:** Período probable de almacenaje de lotes de soja con distintos niveles de semilla verde, mantenidos en atmósfera controlada regulada a una temperatura media de 8°C y considerando una humedad de cosecha del 12,5%.

%GV	Kf	Ki	p (días)	p (meses)
0	0,84	1,103	230	8
6	0,84	1,073	203	7
10	0,84	1,046	180	6
16	0,84	0,964	109	4
30	0,84	0,531		
100	0,84	0,270		

**Cuadro 4.3:** Período probable de almacenaje de lotes de soja con distintos niveles de semilla verde, mantenidos a una temperatura media de 20°C y considerando una humedad de cosecha del 12,5%.

%GV	Kf	Ki	p (días)	p (meses)
0	0,84	1,103	50	2
6	0,84	1,073	44	1
10	0,84	1,046	39	1
16	0,84	0,964	24	1
30	0,84	0,531		
100	0,84	0,270		

Del análisis se desprende que si un productor de soja pretendiese almacenar semilla de soja, de iguales características a la utilizada en este ensayo, para ser usada en la siguiente campaña y con un contenido de humedad del lote de 12,5%, solo podría lograr un poder germinativo superior al 80% previo a la siembra en lotes de soja con contenidos de semilla verde iguales o inferiores a 10% y siempre que las condiciones de almacenaje fueran con refrigeración, manteniendo una temperatura promedio de 8°C (Cuadro 4.2). De otro modo, si la conservación de las semillas se realiza a temperatura ambiente y considerando una temperatura promedio de 20°C, la viabilidad decaerá por debajo del 80%, por lo cual no se justificaría su almacenaje (Cuadro 3.3).

#### 4.5. DISCUSIÓN

El análisis llevado a cabo en este capítulo, permitió derivar el parámetro (Ki) que, utilizado en el contexto de la Ecuación de Viabilidad (Ellis y Roberts, 1980), facilita enormemente la toma de decisiones en términos de manejo post-cosecha.

Se analizó la calidad de lotes de semilla de soja con presencia de grano verde mediante la prueba de germinación estándar y el test de envejecimiento acelerado. Las

metodologías empleadas detectaron un efecto negativo debido a la presencia de grano verde, con una reducción tanto en los valores de germinación ( $r = -79$ ) como de longevidad potencial ( $r = -78$ ). Sin embargo, la metodología del envejecimiento acelerado seguido del uso de la ecuación de viabilidad para obtener el parámetro **Ki** (**longevidad potencial del lote**) fue más contundente para definir la calidad del lote. De la misma manera, cuando se realizó la prueba EA estándar también brindó menor información que el Ki, ya que prácticamente no pudo discriminar lotes con diferente nivel en %GV. Así, un incremento del contenido de GV de 16 al 30% significó una reducción de 12,5% en el poder germinativo, mientras que la longevidad potencial decayó un 44,8%. Por lo expuesto, resulta evidente que la prueba de envejecimiento acelerado, para obtener el parámetro **Ki**, es importante en los lotes de dudosa procedencia, ya que aporta mayor información sobre su calidad que el análisis de germinación y EA estándar.

Si se considera que actualmente, para la comercialización de semilla de soja en Argentina, se exigen lotes de simientes con un valor mínimo de Poder Germinativo de 80% (Gallo *et al.*, 2008 b), solo las muestras con valores inferiores al 16% GV podrían ser comercializados. De esto se desprende que el nivel máximo de tolerancia de semillas verdes para lotes de simientes podría ser establecido en 16%. De la misma manera, Gallo *et al.* (2009) sugirieron el mismo nivel máximo de tolerancia.

En este sentido, Gallo *et al.* (2008 b) reconocen que las empresas productoras de semillas establecen internamente un valor de PG superior al regulado comercialmente, quedando fijado en alrededor del 85%. Considerando este valor de germinación para la venta de semillas, el nivel máximo de tolerancia de semillas verdes que los autores proponen para las empresas productoras es del 10%. De la misma manera, en el presente estudio pudo apreciarse que en las muestras con contenidos de semilla verde superiores al 10%, la longevidad potencial cayó por debajo del 85%.

En el presente estudio se procedió a aplicar la ecuación de viabilidad, lo que dejó en evidencia la mala calidad de lotes de soja con semilla verde superior al 10%, ya que, aún almacenándolos con temperatura regulada a 8°C, no alcanzarían el %PG igual 80, requerido para realizar una buena siembra. Por lo tanto, se destaca este tipo de análisis a lotes de semilla con calidad dudosa, ya que es posible establecer en pocos días si el mismo puede o no ser destinado para la siembra.

De todos modos, debe recordarse que en la presente experiencia los lotes de semilla sin presencia de grano verde tenían un valor de poder germinativo inicial del 82%, atribuible a las condiciones ambientales durante el desarrollo del cultivo, explicadas en detalle en los Capítulos 2 y 3 de esta tesis. Por lo tanto, a partir de estos hallazgos, se presenta la necesidad de evaluar semillas obtenidas en un amplio rango de condiciones ambientales durante el desarrollo del cultivo.

#### 4.6. CONCLUSIONES

Lotes de semilla con más de 16% de grano verde presentarían problemas de almacenaje ya que parten de menores valores de poder germinativo. Porcentajes de semilla verde superiores al 16% afectaron la longevidad potencial, considerando un porcentaje de PG final del 80%, mientras que con mayores exigencias de germinación, el porcentaje de grano verde permisible dentro del lote disminuye a un 10%.

## CAPÍTULO 5

### 5.1. DISCUSIÓN GENERAL

Actualmente, el cultivo de soja es el más importante en Argentina. Es evidente que los estudios destinados a comprender aspectos que pueden influir en los rendimientos y/o calidad del producto obtenido, entre otros aspectos, son particularmente relevantes para la economía nacional. En este sentido, esta tesis aborda una problemática conocida por muchos productores de granos y semilla de soja: la presencia de granos/semillas verdes en la cosecha de la soja. El problema de los granos verdes es especialmente relevante ya que ocasiona descuentos en la comercialización de los granos. La calidad de los mismos es inferior debido a la presencia de clorofila que se transfiere al aceite producido en su industrialización. Por otra parte, si el destino es como simiente, también afectan la calidad del lote de semillas.

Al respecto, se encontró una vasta bibliografía (nacional e internacional) sobre temas inherentes a la calidad de la simiente producida, sobre todo relacionadas a los efectos de su presencia sobre los parámetros poder germinativo, viabilidad y vigor y, por otro lado, existía previo a la realización de esta tesis, alguna información referida a las posibles causas de su aparición. Sin embargo, ninguna evidencia mostraba datos contundentes que vinculen la problemática con parámetros ambientales en condiciones de campo.

El trabajo realizado en esta tesis tuvo como finalidad producir información sobre las posibles causas de la aparición de grano verde en soja, con énfasis en el efecto de la temperatura durante el período de llenado de los granos, de manera de permitir desarrollar estrategias de manejo adecuadas que involucren la elección del genotipo y de la fecha de siembra. A su vez, se pretendió establecer el efecto que esta anomalía produce sobre la capacidad del lote de mantener alto vigor y germinabilidad durante el almacenaje.

La primera hipótesis planteada fue que la presencia de grano verde en soja está asociada a un evento de alta temperatura coincidente con algún momento dentro de la etapa de formación del grano. Para poner a prueba esta hipótesis se realizaron cinco ensayos a campo (en cinco campañas) en los que se llevaron a cabo combinaciones de genotipos y fechas de siembra y dos ensayos (en dos campañas) en donde se eligió un único genotipo al que se le incrementó artificialmente la temperatura durante algún momento del llenado de granos.

Cuando se analizaron las temperaturas y balances hídricos durante el llenado de los granos, se comprobó que ambas variables están asociadas con la presencia de grano verde. Los resultados encontrados confirmaron la existencia de una marcada diferencia entre genotipos de GM precoces (III y IV) y los más largos (V, VI y VII) y entre FS tempranas (2da. quincena de septiembre – 1ra. de noviembre) y las más tardías (2da. de noviembre – 2da. de diciembre), en coincidencia con otros autores (Cuniberti *et al.*, 2004; Parra, 2005; Fuentes y Suárez, 2006). Por consiguiente, la siembra de genotipos de GM III y IV en FS tempranas, en Rafaela, produjo los mayores niveles de GV, asociados a elevados déficits hídricos y temperaturas durante el llenado, siendo la última etapa de ese período la más influenciada por dichas variables.

Sin embargo, como en el campo las temperaturas altas ocurrieron frecuentemente en conjunto con deficiencias hídricas, no fue posible diferenciar,

mediante el método de siembras continuadas a campo, los efectos ambientales (temperaturas y disponibilidad hídrica). No obstante, los hallazgos de estos ensayos fueron particularmente importantes por el análisis de la vinculación entre las condiciones ambientales y la presencia de grano verde. Hasta el presente, no existía información fehaciente que analizara estos aspectos en condiciones de campo. En este sentido, pudo comprobarse que con un déficit hídrico de más de 35 mm durante R5-R7, existe una relación cuantitativa entre la aparición de GV y la temperatura experimentada en la fase R6-R7 (Figura 2.17).

La realización de ensayos en condiciones semi-controladas permitió descartar fehacientemente el efecto de la temperatura como única variable influenciando la aparición de granos verdes. La presencia de grano verde fue evidente en situaciones de temperaturas máximas superiores a los 35°C (comunes para Rafaela durante la temporada estival), sumadas a déficits hídricos en la etapa R5.5 – R7. Pero aún, provocando temperaturas de hasta 50°C (Capítulo 3, ensayo 2) no hubo presencia de grano verde cuando no existieron limitaciones hídricas durante el llenado de granos. Toda esta información recopilada, podría acoplarse a modelos de predicción fenológica de soja con marchas de temperatura máxima y ET diarias, a fin de calcular la probabilidad de sufrir estrés térmico, solo o combinado con estrés hídrico, en sub-etapas particulares del período R5-R7 y estimar la posible ocurrencia de GV.

Se comprobó además que, de la totalidad de granos verdes, la mayor parte posee menos del 80% de su superficie verde y, por otro lado, que no existiría una relación entre presencia de grano verde y el estrato de planta considerado. Estos resultados confirman, en condiciones de campo, las evidencias halladas por Pádua *et al.* (2009 a) en ensayos en macetas.

Se analizó también, el efecto de la temperatura sobre los rendimientos de la soja y sus componentes. Se constató que tanto el estrés térmico, como el térmico-hídrico disminuyeron los rendimientos. El efecto del estrés térmico fue mayor en R5-R5.5 y R5.5-R6, debido a que disminuyó el número de granos, principal componente del rendimiento, mientras que en R6-R7 solo se afectó el peso de los granos. Por su parte, el estrés térmico-hídrico, si bien tuvo un mayor efecto sobre el R6-R7, todo el período de llenado fue influenciado por este estrés, determinando que los valores en los rendimientos y sus componentes fueron muy inferiores a los registrados para el mismo genotipo en campañas previas. Este estrés también afectó el PG de las semillas y, de la misma manera a lo sucedido con los rendimientos y sus componentes, cuando el estrés fue más pronunciado, el PG fue inferior. Estos resultados sugieren que tanto el establecimiento de granos como su crecimiento son procesos mucho más sensibles al estrés térmico que la manifestación del grano verde, ya que esto último sólo ocurre cuando el estrés térmico está combinado con baja disponibilidad hídrica. Por lo tanto, la hipótesis uno es rechazada.

La segunda hipótesis de esta tesis señalaba que la presencia de grano verde en soja reduce la longevidad potencial de la semilla y disminuye así su almacenabilidad. Para poner a prueba esta hipótesis se estimó la longevidad potencial ( $K_i$ ), que se desprende de la ecuación de viabilidad, a muestras de semilla de diferentes niveles de grano verde. Los resultados encontrados permitieron aceptar la hipótesis planteada y sugirieron que lotes que presentan niveles de 16% de GV o superiores no debieran destinarse para la siembra para la próxima campaña, ya que se afecta marcadamente la germinación del lote.

## 5.2. CONSIDERACIONES FINALES

- Las altas temperaturas por sí solas no son determinantes de la aparición de granos verdes en el cultivo de soja.
- Las condiciones de altas temperaturas durante las etapas finales del llenado en combinación con estrés hídrico favorecen la aparición de granos verdes.
- Esta interacción entre temperatura y condición hídrica se reafirma con experimentos en los que el incremento de la temperatura para una misma condición hídrica, no modificaron los niveles de GV.
- FS tempranas, ubican la etapa R5-R7 de genotipos de GM III y IV en condiciones conducentes de la aparición de GV.
- Sin embargo, dentro de un mismo GM y frente a condiciones ambientales similares, distintos genotipos difirieron en la magnitud de la respuesta.
- Los genotipos de GM largos no exploran, en Rafaela, condiciones conducentes de la aparición de GV.
- Luego de la cosecha, el valor de PG es menos afectado por el %GV que la almacenabilidad de las semillas.

## 5.3. IMPLICANCIAS PARA EL MANEJO DEL CULTIVO

A partir de estas consideraciones finales puede mencionarse que:

- Los resultados hallados en esta tesis resaltan la importancia de la combinación correcta de la fecha de siembra y el grupo de madurez con respecto a la aparición de grano verde.
- A fin de evitar esta anomalía, la siembra de genotipos precoces (GM III y IV) debiera efectuarse, para Rafaela, a partir del 15 de noviembre.
- Una vez realizada la cosecha, los lotes de semilla con más de 16% de GV debieran descartarse como simiente para el próximo año, si se considera un PG final de 80%. Con mayores exigencias de germinación, el %GV permisible disminuye al 10%.

## 5.4. PERSPECTIVAS PARA FUTURAS INVESTIGACIONES

De acuerdo a las evidencias encontradas en los Capítulos 2 y 3, los granos verdes se producen en situaciones de elevadas temperaturas asociadas a estrés hídrico durante el crecimiento de los granos, siendo particularmente importante el ambiente en las últimas etapas del llenado. En esta tesis fue posible descartar el efecto del estrés térmico como único determinante de la aparición de GV pero no fue posible diferenciar los efectos de las dos variables ambientales consideradas, por lo que se plantea la necesidad de identificar el efecto del estrés hídrico por sí mismo. Para ello, sería importante realizar estudios dirigidos en ambientes controlados, en los que logre manipularse de manera independiente la condición hídrica (con riego y/o exclusión de precipitaciones) de la temperatura ambiente. Si bien las carpas resultaron una aproximación adecuada para incrementar las temperaturas, experimentos similares a los realizados en esta tesis se deberían realizar en localidades en los que la temperatura del aire no alcance valores tan elevados como los que ocurren en Rafaela. Una vez que se



haya podido discriminar el efecto térmico del de estrés hídrico será posible identificar, fehacientemente, si alguna de las fases del llenado es más sensible que otras en cuanto a la manifestación de grano verde.

Debido a que en la norma de comercialización de soja, se considera como grano verde a “todo grano o pedazo de grano que presente externamente cualquier intensidad de coloración verdosa, total o parcial”, y a que en este estudio pudo observarse una gran variabilidad entre tonalidades en un mismo lote, se plantea la necesidad de estudiar con mayor detalle las diferencias de tonalidad verde de los granos y su aporte de clorofila al producto final (aceite). De encontrarse una relación entre la observación visual y el contenido de clorofila en aceite, podría convertirse en una herramienta más al momento de definir las rebajas en los lotes de granos comercializados.

---

## BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Adams, C. and Rinne, R. 1980. Seed maturation in soybean (*Glicine max* L. Merr) is independent of seed mass and of de parent plant, yet is necessary for production of viable seed. *Journal Exp. Botany*, 32: 615-620.
- Adams, C., Fjerstad, M. and Rinne, R. 1983. Characteristics of soybean seed maturation: necessity for slow dehidratation. *Crop Sci.*, 23: 265-267.
- Andriani, J.M., Andrade, F.H., Suero, E.E., y Dardanelli, J.L. 1991. Water deficits during reproductive growth of soybeans. I. Theirs effects on dry matter accumulation, seed yield and its components. *Agronomy* 11: 737-746.
- Astegiano, E., Invinkelried, H., Hermann, M. y Pietrobón, M. 2006 Efecto de la temperatura sobre el secado de los granos y la generación de “granos verdes” en soja. En: 3º Congreso de Soja del Mercosur, Resúmenes. Mercosoja 2006. Pág. 71-74.
- Baigorri, H. 1997. Ecofisiología del cultivo. En: El cultivo de la soja en Argentina, Giorda, L.M. y Baidorri, H.E.J., eds. ISSN: 0329-077. INTA C. R. Córdoba. Pp: 30-50.
- Balzarini, M.G. y Di Rienzo, J.A. Info-Gen/P versión 2009. Software para estadística genómica y aplicaciones para el mejoramiento genético. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Baskin, C.C. 1977. Vigor test methods – accelerated aging. *AOSA (Association of Official Seed Analysts) Newsletter*, 51:42-52.
- Bennett, M.A. 2002. Saturated salt accelerated again (SSAA) and other vigor test for vegetable seeds. pp 188 – 198. In: M.B. McDonald, y S. Contreras (Ed). *Seeds: Trade, Production and Technology*. Internacional Seminar. Colección de Extensión. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal.
- Pontificia Universidad Católica de Chile. 15 – 16 Octubre. Santiago. Chile.
- Bergero, P. 2006. La cadena de la soja en Argentina, una de las más competitivas. Pp. 69-72. En: 3er Congreso de Soja del Mercosur, Conferencias plenarias, Foros y Workshops. Mercosoja 2006.
- BCR. 2011. Bolsa de Comercio de Rosario. [Online]. Disponible en: <http://www.bcr.com.ar/Pages/Laboratorios/normas.aspx>
- Board J.E. and Q. Tan. 1995. Assimilatory capacity effects on soybean yield components and pod number. *Crop Sci.* 35:846-851
- Bouzo, C.A., Gariglio, N.F., Pilatti, R.A., Grenon, D.A., Favaro, J.C., Bouchet, E.R. and Freyre, C. 2006. 'INVERSIM': A simulation model for a greenhouse. *Acta Hort. (ISHS)* 719:271-278 [Online]. Disponible en: [http://www.actahort.org/books/719/719\\_30.htm](http://www.actahort.org/books/719/719_30.htm) (Verificado: 30/10/12)
- Bragachini, M. 2005. Análisis de la situación actual de grano verde en soja. *Aposgran 2* (90): 31-33.
- Bragachini, M. y Casini, C. 2005. Prólogo. Pp. 7-8. En: Bragachini, M. y Casini, C. (Eds.) *Soja: Eficiencia de Cosecha y Postcosecha*. Proyecto Eficiencia de Cosecha y Postcosecha de granos. Manual Técnico N°3. INTA.
- Câmara, G.M.S. y Heiffig, L.S. 2000. Fisiologia, ambiente e rendimento da cultura da soja. Pp. 81-120. En: Câmara, GMS. *Soja: tecnologia da produção II*. Piracicaba: ESALQ/LPV.
- Casini, C., Craviotto, R. y Giancola, S. 1997. Calidad de la semilla. Pp. 91-122. En: Giorda, L. y Baigorri, H. (Eds.). *El cultivo de la soja en Argentina*. INTA EEA

Marcos Juárez – EEA Manfredi.

- Cicchino, M., Rattalino Edreira, J.I. and Otegui, M.E. 2010 a. Heat Stress during Late Vegetative Growth of Maize: Effects on Phenology and Assessment of Optimum Temperature. *Crop Sci.* 50(4):1431-1437.
- Cicchino, M., Rattalino Edreira, J.I., Uribelarrea, M. and Otegui, M.E. 2010 b. Heat Stress in Field-Grown Maize: Response of Physiological Determinants of Grain Yield. *Crop Sci.* 50(4): 1438-1448.
- Costa, N.P., França Neto, J.B., Pereyra, J.E., Mesquita, C.M., Krzyzanowski, F.C. y Henning, A.A. 2001. Efeito de sementes verdes na qualidade fisiológica de sementes de soja. *Revista Brasileira de sementes, Londrina.* V: 23 (2):102-107.
- Costa, M.L., Civello, P.M., Chaves, A.R. y Martínez, G.A. 2006. Hot air treatment decreases chlorophyll catabolism during post harvest senescence of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) heads. *Journal of the science of Food and Agriculture* 86 (7): 1125-1131.
- Cuniberti, M., Herrero, R. y Baigorri, H. 2001. Calidad industrial, rendimiento y sanidad de la soja en la región central del país, campaña 2000/01. *Aposgran* 3 (74): 6-10.
- Cuniberti, M., Herrero, R., Vallone, S. y Baigorri, H. 2004. Calidad Industrial de la soja argentina. Pp. 961-970. En: VII World Soybean Research Conference, IV International Soybean Processing and Utilization Conference y III Congreso Mundial de Soja (Brazilian Soybean Congress), Proceedings.
- Cuniberti, M., Herrero, R., Distéfano, S., Mir, L., Berra, O. y Macagno, S. 2006. Calidad industrial y sanitaria de la soja en la región núcleo sojera. Cosecha 2006/07. *Información de Actualización Técnica, INTA Marcos Juárez,* 7: 63-65.
- Cuniberti, M., Herrero, R., Mir, L., Berra, O. y Macagno, S. 2008. Calidad industrial de la soja en la región núcleo-sojera. Cosecha 2007-08. *Información Técnica de Cultivos de Verano, campaña 2008.* Pub. Misc. INTA Rafaela 112: 181-187.
- Cuniberti, M., Herrero, R., Mir, L., Berra, O. y Macagno, S. 2009. Calidad industrial de la Soja en la Región Núcleo-Sojera. Cosecha 2008-09. *Informe de Actualización Técnica N° 14,* pp. 57-61. INTA EEA Marcos Juárez.
- Cravioto, R. y Arango, M. 2001. Calidad de semilla 2001, Odisea de la soja. *Aposgran* 2 (73): 10-13.
- Cravioto, R. y Arango, M. 2005. Problemática de granos y semillas verdes en soja. *Información Técnica de cultivos de verano, campaña 2005.* Pub. Misc. INTA Rafaela 104: 127-130.
- Cheng, M., McPhee, K.E. and Baik, B. 2004. Bleaching of green peas and changes in enzyme activities of seeds under simulated climatic conditions. *Journal of Food Science,* 69 (7): C511-C518.
- Da Veiga, A. 2005. La soja y la Expansión de la frontera agrícola Argentina. Pp. 9-24. En: Bragachini, M. y Casini, C. (eds.) *Soja: Eficiencia de Cosecha y Postcosecha. Proyecto Eficiencia de Cosecha y Postcosecha de granos. Manual Técnico N°3.* INTA.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. *InfoStat* versión 2009. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Dickie, J.B., Ellis, R.H., Kraak, H.L., Ryder K., and Tompsett, P.B. 1990. Temperature and seed storage longevity. *Annals of Botany* 65: 197-204.
- Egli, D.B. 1997. Cultivar maturity and response of soybean to shade stress during seed filling. *Field Crops Research.* 52:1-8.
- Ellis, R.H. and Roberts, E.H. 1980. Improved equations for the prediction of seed

- longevity. *Annals of Botany*, 45: 13-30.
- Ellis, R.H. and Roberts, E.H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*, 9: 373-409.
- Fehr W. and C. Caviness. 1977. Stages of soybean development. Spec. Report N° 80 Coop. Ext. Ser., Iowa State University. Ames, Iowa, EE.UU.
- Fischer, R.A., Rees, D., Sayre, K.D., Lu, Z.M., Condon, A.G., and Larque Saavedra, A. 1998. Wheat yield progress associated with higher stomatal conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies. *Crop Science* 38: 1467-1475.
- França-Neto, J.B., Pádua, G.P., Carvalho, M.L.M., Costa, O., Brumatti, P.S.R., Krzyzanowski, F.C., da Costa, N.P., Henning, A.A. y Sanches, D.P. 2005. Semente esverdeada de soja e sua qualidade fisiológica. Circular Técnica N°38, EMBRAPA Soja. Londrina, Brasil, 8 pp.
- Fuentes, F.H. y Suárez, J.C. 2006. Evaluación de grano verde en muestras experimentales de soja. Pp. 574-577. En: 3er Congreso de Soja del Mercosur, Resúmenes. Mercosoja 2006.
- Funamoto, Y., Yamauchi, N., Shigenaga, T. y Shigyo, M. 2002. Effects of heat treatment on chlorophyll degrading enzymes in stored broccoli (*Brassica oleracea* L.). *Post harvest Biology and Technology*, 24 (2): 163-170.
- Gallo, C. 2008. Calidad fisiológica y efecto de la presencia de semillas verdes de soja (*Glicine max* (L.) Merr) en lotes destinados a simiente. Tesis de Maestría, mención en Tecnología de semillas. UNC, Facultad de Cs. Agropecuarias. Esc. para Graduados. 134 p.
- Gallo, C., Arango Perearnau, M.R. y Craviotto, R.M. 2006. Semillas verdes: su influencia en la calidad fisiológica de semillas de soja. Pp. 137-140. En: 3er. Congreso de Soja del Mercosur, Resúmenes. Mercosoja 2006.
- Gallo C., Craviotto R., Arango M. y González L. 2008 a. Calidad Fisiológica de semillas verdes de soja (*Glicine max* L. Merr.). Pp. 235. En: XIII Reunión Latinoamericana y XXVII Reunión Argentina de Fisiología Vegetal, Resúmenes de Conferencias, Simposios y Trabajos.
- Gallo, C., Craviotto R., Arango, M. y González, L. 2008 b. Determinación del nivel máximo de tolerancia de semillas verdes que puede ser aceptado en un lote de soja destinado a simiente. Pp. 112-116. En: Soja, para mejorar la producción N°39. INTA EEA Oliveros.
- Gallo C., Craviotto R., Arango M. y González L. 2009. ¿Qué hacer con las semillas verdes de soja? [Online]. Disponible en: <http://www.planetasoja.com/index.php?sec=2&pag=1&ord=fechaPublicacion+DESC&fil=&seltab=1&tra=35017&orden=fechaPublicacion> (Verificado: 30/10/12).
- Gauch, H.G. 1992. Statical análisis of regional yield trials: AMMI análisis of factorial designs. Elsevier, Amsterdam, 278 p.
- Giancola, S.I., Salvador, M.L., Cavacevich, M. y Iturrioz, G. 2009. Análisis de Cadena de soja en la Argentina. Estudios Socioeconómicos de los sistemas Agroalimentarios y Agroindustriales N°3. Ediciones INTA. ISSN 1852-4605. 117 p.
- Gomes, M.S.O., Sinnecker, P., Tanaka, R.T. and Lanfer-Merquez, U.M. 2003. Effect of harvesting and drying conditions on chlorophyll levels of soybean (*Glycine max* L. Merr.). *J. Agric. Food Chem.*, 51, 1634-1639.
- Guiamét, J.J, Schwartz, E., Pichershy, E. y Noodén, L.D. 1991. Characterization of cytoplasmic and nuclear mutations affecting chlorophyll and chlorophyll-binding proteins during senescence in soybean. *Plant Physiology*, Rockville. 96 (1): 227-

231.

- Hasegawa, P.M. and Locy, R.D. 2002. Stress Physiology (Ch. 25). En: Taiz & Zeiger (Eds.). Plant Physiology, third edition. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, USA. Pág. 591-623.
- Holden, M. 1961. The breakdown of Chlorophyll by Chlorophyllase. *Biochem. J.* 78: 359-364.
- ISTA, 1995 a. Handbook on Seedling Evaluation. International Seed Testing Association, Zürich, 150 pp.
- ISTA. 1995 b. Handbook of Vigour Test Methods. Hampton, J.G. and Tekrony, D.M. (Eds.). International Seed Testing Association. Zürich, 117 pp.
- ISTA. 2003. International Rules for Seed Testing. Zürich, 500 pp.
- Jalink, H., Van der Schoor, R., Frandas, A. and Van Pijlen, J.G. 1998. Chlorophyll fluorescent of Brassica oleracea seeds as a non-destructive marker for seed maturity and seed performance. *Seed Science Research*, New York, 8 (4): 437-443.
- Janmohammadi, M., Fallahnezhad, Y., Golshan, M. and Mohammadi, H. 2008. Controlled ageing storability assessment and predicting seedling early growth of canola cultivars (*Brassica napus* L.). *ARP Journal of Agricultural and Biological Science*, 3 (5&6): 22-26.
- Johnson-Flanagan, A.M. and Sepencer, M.S. 1996. Chlorophyllase and peroxidase activity during degreening of maturing canola (*Brassica napus*) and mustard (*Brassica juncea*) seed. *Physiologia Plantarum*, 97 (2): 353-359.
- Kolb, P., and Robberecht, R. 1996. High temperature and drought stress effects on survival of *Pinus ponderosa* seedlings. *Tree Physiology* 16, 665-672
- Kruse, M., Ghiasvand Ghiasi, K. y Schmohl, S. 2005. The seed viability equation for analysing seed storage behaviour. 7th. ISTA Seminar on Statistics [Online]. Disponible en: <http://www.seedtest.org/upload/cms/user/presentation5Kruseetal.pdf>. (Verificado: 30/10/12).
- Mandarino, J.M.G. 2005. Coloração esverdeada nos grãos de soja e seus derivados. Comunicado Técnico Nº77. EMBRAPA Soja. Londrina, Brasil.
- Mc. Gregor. D.I. 1991. Influence of environment and genotype on rapeseed / canola seed chlorophyll content. *Seed Science and Technology*, Zurich. 19: 107-116.
- McIntyre, G.I. 1987. The rol of water in the regulation of plant development. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa. 65 (7): 1287-1298.
- Medina, P.F., Lago, A.A., Razera, L.F. y Maeda, J.A. 1997. Composição física e qualidade de lotes de sementes de soja com incidência de sementes esverdeadas. *Informativo ABRATES*, v.7, n. 1/2, p.36.
- Molino, J., Vega, C.R.C., y Kantolic, A. 2007. Dinámica del perfil de determinación y supervivencia de vainas de soja ante estrés térmico por alta temperatura. Workshop Internacional. Eco Fisiología Vegetal Aplicada al Estudio de la Determinación del Rendimiento y la Calidad de los Cultivos de Granos. Primer Encuentro Red Raíces de Ecofisiología SECyT. Mar del Plata, Buenos Aires (AR). FA-UBA, INTA y FCAUNMdP. p. 134-135.
- Molino, J., Vega, C.R.C., y Kantolic, A. 2008. Determinación del peso de grano en soja [*Glycine max* (L.) Merr.] en respuesta al estrés térmico bajo condiciones contrastantes de disponibilidad hídrica. XIII Reunión Latinoamericana. XXVII Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. [Online]. Disponible en: <http://agro.unc.edu.ar/~fisveg/RLFV/posters/046.html> (Verificado: 30/10/12).
- Monteith, J.L. 1965. Evaporation and environment. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 19: 205-224.

- Noodén, L.D. 1984. Integration of soybean pod development and monocarpic senescence. *Physiologia Plantarum* 62 (2): 273-284.
- Noodén, L.D., Guiamét, J.J. y John, I. 1997. Senescence mechanisms. *Physiologia Plantarum*. 101 (4): 746-753.
- Pádua, G.P., França Neto, J.B., Carvahlo, M.L.M., Costa, O., Krzyzanowski, F.C., da Costa, N. y Henning, A.A. 2005. Determinação do nível máximo de tolerância de sementes esverdeadas em lotes de sementes de soja. *Informativo ABRATES*, v.15. Pelotas, Brasil.
- Pádua, G.P., França Neto, J., Carvahlo, M.L., Costa, O., Krzyzanowski, F. y da Costa, N. 2007. Tolerance level of green seed in soybean seed lots alter storage. *Revista Brasileira de sementes*, 29 (3): 128-138.
- Pádua, G.P., Carvahlo, M.L., França Neto, J., Guerreiro, M.C. y Guimarães, R.M. 2009a. Response of soybean genotypes to the expression of green seed under temperature and water stresses. *Revista Brasileira de Sementes*, 31 (3): 140-149.
- Pádua, G.P., França Neto, J., Carvahlo, M.L., Krzyzanowski, F. y Guimarães, R.M. 2009b. Incidence of green soybean seed as a function of environmental stresses during seed maturation. *Revista Brasileira de Sementes*, 31 (3): 150-159.
- Parra, R. 2005. Importantes rebajas por presencia de granos verdes en cosecha de soja. Informe para extensión, INTA Reconquista [Online]. Disponible en: <http://www.agrositio.com/vertext/vertext.asp?id=43358&se=12> (Verificado: 30/10/12).
- Rachidi, F., Kirkham, M.B., Stone, L.R. and Kanemasu, E.T. 1993. Soil water depletion by sunflower and sorghum under rainfed conditions. *Agricultural Water Management*. 24 (1): 49-62.
- Rattalino Edreira, J.I., Budakli Carpici, E., Sammarro, D. and Otegui, M.E. 2011. Heat stress effects around flowering on kernel set of temperate and tropical maize hybrids. *Field Crops Research*. V. 123 (2): 62-73.
- Rondanini, D.P., Savin, R. y Hall, A. 2007. Estimation of physiological maturity in sunflower as a function of fruit water concentration. *Europ. J. Agronomy* 26: 295-309.
- Rossi, R. 2003. Calidad intrínseca de la producción granaria, caso soja. Pp. 49-52. En: *Actas Jornada sobre Calidad de Grano "La Competitividad de los Granos Argentinos en el s. XXI"*. Bolsa de Cereales de Bs. As.
- Salinas, A.R., Craviotto, R.M., Arango, M.R., Gallo, C., Ferreri, S.A. y Bisaro, V. 2004. "Dynamics of the soybean development". VII World Soybean Research Conference. Foz de Iguazú, PR. Brasil, 29/02/2004.
- Sánchez, J., Gualano, N. y Benech-Arnold, R. 2008. Influencia de la temperatura de secado sobre la longevidad potencial de granos de cebada cervecera (*Hordeum vulgare* L.). Pág. 240. En: XIII Reunión Latinoamericana y XXVII Reunión Argentina de Fisiología Vegetal, Resúmenes de Conferencias, Simposios y Trabajos.
- Scheeren B.R. y Tolentino C.F. 2005. La baja calidad de semillas verdes de soja. *Seed News*. Edición noviembre-diciembre 2005, Pp. 22-23.
- Sinnecker, P. 2002. Degradação da clorofila durante a maturação e secagem de semente de soja. São Paulo: USP. 2002. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. 103 p.
- Sinnecker, P., Braga, N., Macchione, E. y Lanfer-Marquez, U. 2005. Mechanism of soybean (*Glycine max* L. Merrill) degreening related to maturity and postharvest drying temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 38: 269-279.
- SIIA. 2011. Sistema Integrado de Información Agropecuaria. MAGyP. [Online]

- Disponible en: <http://www.siaa.gov.ar/index.php/series-por-tema/agricultura>. (Verificado: 9/11/11).
- Smiciklas, K.D., Mullen, R.E., Carlson, R.E. and Knapp, A.D. 1992. Soybean seed quality response to drought stress and pod position. *Agron. J.* 84:166-170.
- Spec Ware 6,02. 2003. Spectrum Technologies, Inc. W. Andrew Rd. Plainfield, Illinois. Copyright 2003.
- Tanoni, J. 2005. Influencia de los granos verdes en la Industrialización. Pp. 117-121. En: XIII Congreso de Aapresid: "El futuro y los cambios de paradigmas".
- Tekrony, D. 1995. Accelerated aging. Pp. 53-72. In: Van de venter, H. A. (Ed.) Seed vigour testing seminar. Copenhagen. ISTA.
- Tekrony, D., Egli, D., Balles, J., Pfeiffer, T. and Fellows, R. 1979. Physiological maturity in soybean. *Agronomy Journal* 71: 771-775.
- Villar, J. 2009. Estimación del rendimiento de trigo a partir del agua almacenada en el centro de Santa Fe. En: Información técnica de trigo y otros cultivos de invierno. Publicación Miscelánea N°113. EEA Rafaela. ISSN 0325-9137. Pág. 23-34.
- Villar, J. y Cencig, G. 2005. Cultivares de soja pertenecientes a diferentes grupos de madurez en seis fechas de siembra, Rafaela, Santa Fe, 2004/2005. Información Técnica de cultivos de verano, campaña 2005. Pub. Misc. INTA Rafaela 104: 40-45.
- Villar, J. y Cencig, G. 2006. Cultivares de soja pertenecientes a diferentes grupos de madurez en seis fechas de siembra, Rafaela, Santa Fe, 2005/06. Información técnica de cultivos de verano. Campaña 2006. Pub. Misc. INTA Rafaela 106: 30-38.
- Villar, J. y Cencig, G. 2008 a. Cultivares de soja pertenecientes a diferentes grupos de madurez en cuatro fechas de siembra, Rafaela, Santa Fe, 2007/08. Información técnica de cultivos de verano. Campaña 2008. Pub. Misc. INTA Rafaela 112: 80-85.
- Villar, J. y Cencig, G. 2008 b. Evaluación de cultivares de soja en Rafaela, Villa Trinidad y San Justo. Región Centro de Santa Fe, campaña 2007/08. En: Información Técnica de Cultivos de Verano, campaña 2008. Publicación Miscelánea INTA Rafaela N° 112: 46-70.
- Villar, J. y Cencig, G. 2009. Cultivares de soja pertenecientes a diferentes grupos de madurez en cuatro fechas de siembra, Rafaela, Santa Fe, 2008/09. Información técnica de cultivos de verano. Campaña 2009. Pub. Misc. INTA Rafaela 115: 90-95.
- Villar, J., Cencig, G. y Lutz, A. 2010. Cultivares de soja pertenecientes a diferentes grupos de madurez en cinco fechas de siembra, Rafaela, Santa Fe, 2009/10. Información técnica de cultivos de verano. Campaña 2010. Pub. Misc. INTA Rafaela 118: 77-82.
- Ward, K., Scarth, R., Daun, J. y McVetty, P.B.E. 1992. Effects of genotype and environment on seed chlorophyll degradation during ripening oilseed rape (*Brassica napus*). *Canadian Journal of Plant Science*, Ottawa, 72 (3): 643-649.
- Ward, K., Scarth, R., Daun, J. y Vessey, J.K. 1995. Chlorophyll degradation in summer oilseed rape and summer turnip rape during seed ripening. *Canadian Journal of Plant Science*, Ottawa, 75 (2): 413-420.
- Wiebold, B. 2009. Soybean plants killed before maturity possess grain that remains green. *Integrated pest and crop management*. Nov. 3, v. 19, no. 21. Pag. 152.
- Zorato, M.F. 2003. Reflexo da presença de sementes esverdeadas na qualidade fisiológica em soja. Tese Doutorado em Ciencia e Tecnologia de Sementes. [Online]. Disponible en: [http://www.ufpel.edu.br/tede/tde\\_arquivos/2/TDE-](http://www.ufpel.edu.br/tede/tde_arquivos/2/TDE-)

[2008-04-10T054613Z-230/Publico/tese\\_maria\\_de\\_fatima\\_zorato.pdf](#)

(Verificado: 30/10/12).

Zorato, M.F., y Watanabe, P.A. 2006. Soya Verde: La degradación Parcial de la Clorofila. Manual de Difusión Técnica de Soya 2006. Fundacruz, Bolivia. Pp. 160-163.

Zorato, M., Teichert Peske, S., Takeda, C. y França Neto, J. 2007. Presença de sementes esverdeadas em soja e seus efeitos sobre seu potencial fisiológico. Revista Brasileira de Sementes, 29 (1):11-19.



## APÉNDICE I

Cuadro I.1. Norma de calidad para la comercialización de soja. NORMA XVII

RUBROS	BASE (%)	TOLERANCIA (%)	REBAJAS	MERMAS
MATERIAS EXTRAÑAS	1,0	3,0	Para valores superiores al 1,0% y hasta el 3,0% a razón del 1,0% por cada por ciento o fracción proporcional. Para valores superiores al 3,0% a razón del 1,5% por cada por ciento o fracción proporcional.	
incluido TIERRA	0,5	0,5	Para valores superiores al 0,5% a razón del 1,5% por cada por ciento o fracción proporcional.	
GRANOS NEGROS	---	1,0	-----	
GRANOS QUEBRADOS Y/O PARTIDOS	20,0	30,0	Para valores superiores al 20,0% y hasta el 25,0% a razón del 0,25% por cada por ciento o fracción proporcional. Para valores superiores al 25,0% y hasta el 30,0% a razón del 0,5% por cada por ciento o fracción proporcional. Para valores superiores al 30,0% a razón del 0,75% por cada por ciento o fracción proporcional.	
GRANOS DAÑADOS (brotados, fermentados y ardidos, por calor, podridos)	5,0	5,0	Para valores superiores al 5,0% a razón del 1,0% por cada por ciento o fracción proporcional.	
incluido GRANOS QUEMADOS o "AVERIA"	---	1,0	Para valores superiores al 1,0% a razón del 1,0% por cada por ciento o fracción proporcional.	
GRANOS VERDES	5,0	10,0	Para valores superiores al 5,0% se rebajará a razón del 0,2% por cada por ciento o fracción proporcional.	
HUMEDAD	----	13,5	-----	Para mercadería recibida que exceda la tolerancia de recibo, se descontarán las mermas correspondientes, de acuerdo a las tablas establecidas.
CHAMICO	----	5 semillas por Kg.	-----	Para mercadería recibida que exceda la tolerancia de recibo, se practicarán las mermas correspondientes.

## APÉNDICE II

**Cuadro II.1:** Fechas de siembra y de los estados fenológicos R1, R3, R5, R6, R7 y R8 de diferentes cultivares de soja para Rafaela, campaña 2004/05.

Epoca de siembra (quincenas)	fecha de siembra	Cultivar	R1	R3	R5	R6	R7	R8
2 - sep	16/09/2004	DM3100	12/11/04	19/11/04	03/12/04	05/01/05	29/01/05	05/02/05
2 - sep	16/09/2004	DM3700	12/11/04	28/11/04	15/12/04	19/01/05	29/01/05	16/05/05
2 - sep	16/09/2004	DM4200	12/11/04	29/11/04	14/12/04	18/01/05	26/01/05	03/02/05
2 - sep	16/09/2004	DM4600	12/11/04	30/11/04	17/12/04	24/01/05	31/01/05	09/02/05
2 - sep	16/09/2004	DM4870	12/11/04	30/11/04	27/12/04	28/01/05	31/01/05	07/02/05
2 - sep	16/09/2004	TJ2055	30/11/04	17/12/04	06/01/05	10/02/05	15/02/05	26/02/05
2 - sep	16/09/2004	A6411	25/11/04	20/12/04	04/01/05	05/02/05	18/02/05	12/03/05
2 - sep	16/09/2004	A7636	24/11/04	28/12/04	14/01/05	19/02/05	06/03/05	25/03/05
1 - oct	05/10/2004	DM3100	20/11/04	01/12/04	17/12/04	17/01/05	23/01/05	01/02/05
1 - oct	05/10/2004	DM3700	22/11/04	08/12/04	23/12/04	22/01/05	30/01/05	06/02/05
1 - oct	05/10/2004	DM4200	22/11/04	08/12/04	18/12/04	18/01/05	28/01/05	06/02/05
1 - oct	05/10/2004	DM4600	24/11/04	11/12/04	26/12/04	27/01/05	01/02/05	08/02/05
1 - oct	05/10/2004	DM4870	24/11/04	11/12/04	31/12/04	28/01/05	02/02/05	11/02/05
1 - oct	05/10/2004	TJ2055	13/12/04	25/12/04	22/01/05	13/02/05	17/02/05	01/03/05
1 - oct	05/10/2004	A6411	13/12/04	26/12/04	14/01/05	13/02/05	21/02/05	05/03/05
1 - oct	05/10/2004	A7636	14/12/04	06/01/05	27/01/05	26/02/05	07/03/05	24/03/05
2 - oct	25/10/2004	DM3100	03/12/04	15/12/04	31/12/04	26/01/05	31/01/05	06/02/05
2 - oct	25/10/2004	DM3700	05/12/04	16/12/04	03/01/05	02/02/05	09/02/05	21/02/05
2 - oct	25/10/2004	DM4200	06/12/04	18/12/04	04/01/05	29/01/05	06/02/05	18/02/05
2 - oct	25/10/2004	DM4600	06/12/04	18/12/04	07/01/05	04/02/05	10/02/05	19/02/05
2 - oct	25/10/2004	DM4870	06/12/04	22/12/04	15/01/05	11/02/05	20/02/05	02/03/05
2 - oct	25/10/2004	TJ2055	26/12/04	12/01/05	29/01/05	26/02/05	02/03/05	06/03/05
2 - oct	25/10/2004	A6411	25/12/04	28/12/04	26/01/05	23/02/05	03/03/05	14/03/05
2 - oct	25/10/2004	A7636	04/01/05	26/01/05	11/02/05	09/03/05	21/03/05	04/04/05
1 - nov	15/11/2004	DM3100	19/12/04	31/12/04	30/01/05	13/02/05	23/02/05	04/03/05
1 - nov	15/11/2004	DM3700	20/12/04	04/01/05	01/02/05	17/02/05	02/03/05	07/03/05
1 - nov	15/11/2004	DM4200	20/12/04	04/01/05	24/01/05	17/02/05	03/03/05	08/03/05
1 - nov	15/11/2004	DM4600	27/12/04	17/01/05	28/01/05	24/02/05	04/03/05	09/03/05
1 - nov	15/11/2004	DM4870	26/12/04	21/01/05	02/02/05	28/02/05	06/03/05	09/03/05
1 - nov	15/11/2004	TJ2055	11/01/05	24/01/05	08/02/05	02/03/05	08/03/05	14/03/05
1 - nov	15/11/2004	A6411	14/01/05	24/01/05	10/02/05	07/03/05	13/03/05	20/03/05
1 - nov	15/11/2004	A7636	22/01/05	05/02/05	22/02/05	15/03/05	03/04/05	17/04/05
1 - dic	06/12/2004	DM3100	09/01/05	21/01/05	05/02/05	25/02/05	01/03/05	10/03/05
1 - dic	06/12/2004	DM3700	15/01/05	24/01/05	09/02/05	05/03/05	10/03/05	19/03/05
1 - dic	06/12/2004	DM4200	11/01/05	23/01/05	09/02/05	01/03/05	08/03/05	15/03/05
1 - dic	06/12/2004	DM4600	16/01/05	28/01/05	11/02/05	08/03/05	14/03/05	20/03/05
1 - dic	06/12/2004	DM4870	16/01/05	29/01/05	15/02/05	13/03/05	23/03/05	03/04/05
1 - dic	06/12/2004	TJ2055	28/01/05	09/02/05	23/02/05	25/03/05	30/03/05	07/04/05
1 - dic	06/12/2004	A6411	30/01/05	09/02/05	22/02/05	18/03/05	04/04/05	18/04/05
1 - dic	06/12/2004	A7636	07/02/05	18/02/05	10/03/05	01/04/05	14/04/05	25/04/05

Cuadro II.2: Fechas de siembra y de los estados fenológicos R1, R3, R5, R6, R7 y R8 de diferentes cultivares de soja para Rafaela, campaña 2005/06.

Epoca de siembra (quincenas)	fecha de siembra	Cultivar	R1	R3	R5	R6	R7	R8
2 - oct	27/10/2005	DM3100	07/12/05	19/12/05	31/12/05	27/01/06	31/01/06	07/02/06
2 - oct	27/10/2005	DM3700	08/12/05	21/12/05	01/01/06	29/01/06	09/02/06	27/02/06
2 - oct	27/10/2005	DM4200	08/12/05	20/12/05	02/01/06	29/01/06	07/02/06	25/02/06
2 - oct	27/10/2005	DM4600	13/12/05	24/12/05	09/01/06	09/02/06	18/02/06	28/02/06
2 - oct	27/10/2005	DM4870	15/12/05	26/12/05	17/01/06	14/02/06	19/02/06	26/02/06
2 - oct	27/10/2005	TJ2055	29/12/05	15/01/05	30/01/06	20/02/06	07/03/06	15/03/06
2 - oct	27/10/2005	A6411	06/01/06	20/01/06	05/02/06	06/03/06	20/03/06	12/04/06
2 - oct	27/10/2005	A7636	08/01/06	08/02/06	26/02/06	20/03/06	11/04/06	29/04/06
1 - nov	10/11/2005	DM3100	16/12/05	26/12/05	09/01/06	07/02/06	13/02/06	24/02/06
1 - nov	10/11/2005	DM3700	18/12/05	28/12/06	16/01/06	14/02/06	19/02/06	27/02/06
1 - nov	10/11/2005	DM4200	16/12/05	27/12/05	15/01/06	13/02/06	20/02/06	10/03/06
1 - nov	10/11/2005	DM4600	20/12/05	06/01/06	19/01/06	16/02/06	26/02/06	20/03/06
1 - nov	10/11/2005	DM4870	20/12/05	02/01/06	23/01/06	17/02/06	24/02/06	26/02/06
1 - nov	10/11/2005	TJ2055	09/01/06	20/01/06	09/02/06	13/03/06	15/03/06	25/03/06
1 - nov	10/11/2005	A6411	19/01/06	01/02/06	18/02/06	20/03/06	24/03/06	22/04/06
1 - nov	10/11/2005	A7636	22/01/06	10/02/06	01/03/06	07/04/06	15/04/06	01/05/06
2 - nov	28/11/2005	DM3100	04/01/06	15/01/06	27/01/06	19/02/06	26/02/06	09/03/06
2 - nov	28/11/2005	DM3700	13/01/06	21/01/06	31/01/06	06/03/06	20/03/06	24/03/06
2 - nov	28/11/2005	DM4200	12/01/06	18/01/06	02/02/06	06/03/06	15/03/06	24/03/06
2 - nov	28/11/2005	DM4600	13/01/06	21/01/06	08/02/06	06/03/06	20/03/06	28/03/06
2 - nov	28/11/2005	DM4870	15/01/06	25/01/06	10/02/06	09/03/06	22/03/06	28/03/06
2 - nov	28/11/2005	TJ2055	26/01/06	05/02/06	18/02/06	09/03/06	25/03/06	02/04/06
2 - nov	28/11/2005	A6411	27/01/06	13/02/06	28/02/06	24/03/06	11/04/06	24/04/06
2 - nov	28/11/2005	A7636	30/01/06	18/02/06	09/03/06	05/04/06	12/04/06	24/04/06
1 - dic	14/12/2005	DM3100	15/01/06	29/01/06	10/02/06	12/03/06	20/03/06	26/03/06
1 - dic	14/12/2005	DM3700	21/01/06	31/01/06	12/02/06	09/03/06	25/03/06	06/04/06
1 - dic	14/12/2005	DM4200	20/01/06	01/02/06	12/02/06	15/03/06	24/03/06	05/04/06
1 - dic	14/12/2005	DM4600	21/01/06	05/02/06	18/02/06	06/03/06	04/04/06	17/04/06
1 - dic	14/12/2005	DM4870	23/01/06	05/02/06	19/02/06	20/03/06	29/03/06	10/04/06
1 - dic	14/12/2005	TJ2055	02/02/06	15/02/06	03/03/06	27/03/06	07/04/06	15/04/06
1 - dic	14/12/2005	A6411	06/02/06	20/02/06	06/03/06	04/04/06	17/04/06	24/04/06
1 - dic	14/12/2005	A7636	07/02/06	06/03/06	15/03/06	09/04/06	20/04/06	02/05/06
2 - dic	28/12/2005	DM3100	28/01/06	07/02/06	27/02/06	20/03/06	03/04/06	11/04/06
2 - dic	28/12/2005	DM3700	30/01/06	12/02/06	27/02/06	24/03/06	08/04/06	15/04/06
2 - dic	28/12/2005	DM4200	28/01/06	15/02/06	05/03/06	27/03/06	06/04/06	18/04/06
2 - dic	28/12/2005	DM4600	31/01/06	13/02/06	26/02/06	20/03/06	09/04/06	19/04/06
2 - dic	28/12/2005	DM4870	22/01/06	15/02/06	06/03/06	02/04/06	10/04/06	19/04/06
2 - dic	28/12/2005	RAR418	31/01/06	17/02/06	06/03/06	02/04/06	11/04/06	22/04/06
2 - dic	28/12/2005	TJ2055	14/02/06	25/02/06	10/03/06	09/04/06	14/04/06	23/04/06
2 - dic	28/12/2005	A5766	14/02/06	27/02/06	09/03/06	07/04/06	19/04/06	22/04/06
2 - dic	28/12/2005	A6411	16/02/06	28/02/06	15/03/06	12/04/06	02/05/06	11/05/06
2 - dic	28/12/2005	A7636	19/02/06	04/03/06	15/03/06	13/04/06	02/05/06	12/05/06

Cuadro II.3: Fechas de siembra y de los estados fenológicos R1, R3, R5, R6, R7 y R8 de diferentes cultivares de soja para Rafaela, campaña 2006/07.

Epoca de siembra (quincenas)	fecha de siembra	Cultivar	R1	R3	R5	R6	R7	R8
1 - nov	06/11/2006	DM3100	18/12/06	28/12/06	17/01/07	12/02/07	27/02/07	13/03/07
1 - nov	06/11/2006	DM3700	18/12/06	02/01/07	17/01/07	12/02/07	27/02/07	16/03/07
1 - nov	06/11/2006	DM4200	18/12/06	04/01/07	19/01/07	12/02/07	27/02/07	16/03/07
1 - nov	06/11/2006	DM4600	18/12/06	04/01/07	19/01/07	12/02/07	28/02/07	19/03/07
1 - nov	06/11/2006	DM4870	18/12/06	04/01/07	26/01/07	13/02/07	08/03/07	23/03/07
1 - nov	06/11/2006	RA514	02/01/07	17/01/07	08/02/07	27/02/07	30/03/07	12/04/07
1 - nov	06/11/2006	A5766	02/01/07	17/01/07	05/02/07	27/02/07	30/03/07	12/04/07
1 - nov	06/11/2006	A6411	08/01/07	26/01/07	08/02/07	27/02/07	03/04/07	16/04/07
1 - nov	06/11/2006	NAND66	05/01/07	26/01/07	08/02/07	27/02/07	30/03/07	12/04/07
1 - nov	06/11/2006	A7321	11/01/07	26/01/07	14/02/07	08/03/07	05/04/07	16/04/07
1 - nov	06/11/2006	A7636	15/01/07	26/01/07	12/02/07	08/03/07	09/04/07	19/04/07
2 - nov	22/11/2006	DM3100	27/12/06	09/01/07	23/01/07	13/02/07	27/02/07	23/03/07
2 - nov	22/11/2006	DM3700	28/12/06	09/01/07	23/01/07	13/02/07	01/03/07	23/03/07
2 - nov	22/11/2006	DM4200	27/12/06	10/01/07	23/01/07	13/02/07	01/03/07	23/03/07
2 - nov	22/11/2006	DM4600	28/12/06	10/01/07	29/01/07	15/02/07	15/03/07	30/03/07
2 - nov	22/11/2006	DM4870	02/01/07	15/01/07	30/01/07	15/02/07	16/03/07	03/04/07
2 - nov	22/11/2006	RA514	11/01/07	29/01/07	08/02/07	27/02/07	03/04/07	12/04/07
2 - nov	22/11/2006	A5766	15/01/07	29/01/07	08/02/07	27/02/07	03/04/07	12/04/07
2 - nov	22/11/2006	A6411	15/01/07	29/01/07	12/02/07	07/03/07	05/04/07	16/04/07
2 - nov	22/11/2006	NAND66	17/01/07	29/01/07	12/02/07	07/03/07	03/04/07	12/04/07
2 - nov	22/11/2006	A7321	29/01/07	05/02/07	15/02/07	03/04/07	09/04/07	15/04/07
2 - nov	22/11/2006	A7636	29/01/07	05/02/07	22/02/07	09/04/07	12/04/07	19/04/07
1 - dic	07/12/2006	DM3100	15/01/07	20/01/07	01/02/07	22/02/07	13/03/07	23/03/07
1 - dic	07/12/2006	DM3700	15/01/07	20/01/07	01/02/07	22/02/07	13/03/07	28/03/07
1 - dic	07/12/2006	DM4200	17/01/07	22/01/07	05/02/07	27/02/07	14/03/07	28/03/07
1 - dic	07/12/2006	DM4600	17/01/07	25/01/07	05/02/07	27/02/07	23/03/07	01/04/07
1 - dic	07/12/2006	A5766	24/01/07	01/02/07	19/02/07	10/03/07	05/04/07	15/04/07
1 - dic	07/12/2006	A6411	24/01/07	01/02/07	19/02/07	10/03/07	05/04/07	15/04/07
1 - dic	07/12/2006	DM4870	19/01/07	29/01/07	15/02/07	05/03/07	23/03/07	10/04/07
1 - dic	07/12/2006	RA514	26/01/07	08/02/07	27/02/07	20/03/07	09/04/07	15/04/07
1 - dic	07/12/2006	NAND66	26/01/07	08/02/07	27/02/07	03/04/07	09/04/07	19/04/07
1 - dic	07/12/2006	A7321	05/02/07	12/02/07	27/02/07	03/04/07	12/04/07	19/04/07
1 - dic	07/12/2006	A7636	05/02/07	12/02/07	27/02/07	09/04/07	14/04/07	30/04/07
2 - dic	29/12/2006	DM3100	28/01/07	08/02/07	19/02/07	19/03/07	03/04/07	10/04/07
2 - dic	29/12/2006	DM3700	28/01/07	08/02/07	19/02/07	19/03/07	05/04/07	13/04/07
2 - dic	29/12/2006	DM4200	28/01/07	08/02/07	19/02/07	19/03/07	05/04/07	13/04/07
2 - dic	29/12/2006	DM4600	03/02/07	08/02/07	19/02/07	23/03/07	09/04/07	18/04/07
2 - dic	29/12/2006	DM4870	01/02/07	12/02/07	27/02/07	03/04/07	09/04/07	18/04/07
2 - dic	29/12/2006	RA514	12/02/07	22/02/07	05/03/07	09/04/07	15/04/07	26/04/07
2 - dic	29/12/2006	A5766	12/02/07	22/02/07	05/03/07	09/04/07	15/04/07	26/04/07
2 - dic	29/12/2006	A6411	13/02/07	23/02/07	08/03/07	12/04/07	19/04/07	30/04/07
2 - dic	29/12/2006	NAND66	12/02/07	23/02/07	08/03/07	12/04/07	19/04/07	30/04/07
2 - dic	29/12/2006	A7321	20/02/07	27/02/07	18/03/07	17/04/07	28/04/07	08/05/07
2 - dic	29/12/2006	A7636	19/02/07	26/02/07	16/03/07	15/04/07	28/04/07	03/05/07

Cuadro II.4: Fechas de siembra y de los estados fenológicos R1, R3, R5, R6, R7 y R8 de diferentes cultivares de soja para Rafaela, campaña 2007/08.

Epoca de siembra (quincenas)	fecha de siembra	Cultivar	R1	R3	R5	R6	R7	R8
2 - oct	26/10/2007	DM3100	03/12/07	16/12/07	02/01/08	02/02/08	13/02/08	27/02/08
2 - oct	26/10/2007	DM3700	04/12/07	19/12/07	07/01/08	05/02/08	20/02/08	06/03/08
2 - oct	26/10/2007	DM4200	04/12/07	17/12/07	11/01/08	14/02/08	26/02/08	12/03/08
2 - oct	26/10/2007	DM4600	05/12/07	27/12/07	22/01/08	17/02/08	02/03/08	14/03/08
2 - oct	26/10/2007	DM4870	05/12/07	30/12/07	26/01/08	23/02/08	05/03/08	14/03/08
2 - oct	26/10/2007	RA514	25/12/07	20/01/08	08/02/08	11/03/08	23/03/08	02/04/08
2 - oct	26/10/2007	A5766	20/12/07	14/01/08	28/01/08	04/03/08	18/03/08	28/03/08
2 - oct	26/10/2007	A6411	26/12/07	18/01/08	08/02/08	11/03/08	25/03/08	03/04/08
2 - oct	26/10/2007	NAND66	27/12/07	25/01/08	17/02/08	16/03/08	25/03/08	03/04/08
2 - oct	26/10/2007	A7321	01/01/08	21/01/08	17/02/08	19/03/08	29/03/08	10/04/08
2 - oct	26/10/2007	TJs2170	29/12/07	07/02/08	17/02/08	20/03/08	31/03/08	12/04/08
1 - nov	13/11/2007	DM3100	20/12/07	08/01/08	20/01/08	16/02/08	25/02/08	10/03/08
1 - nov	13/11/2007	DM3700	21/12/07	09/01/08	22/01/08	20/02/08	05/03/08	16/03/08
1 - nov	13/11/2007	DM4200	22/12/07	12/01/08	25/01/08	22/02/08	08/03/08	20/03/08
1 - nov	13/11/2007	DM4600	25/12/07	11/01/08	03/02/08	04/03/08	14/03/08	24/03/08
1 - nov	13/11/2007	DM4870	26/12/07	18/01/08	03/02/08	03/03/08	15/03/08	24/03/08
1 - nov	13/11/2007	RA514	13/01/08	03/02/08	15/02/08	16/03/08	27/03/08	11/04/08
1 - nov	13/11/2007	A5766	13/01/08	31/01/08	11/02/08	11/03/08	25/03/08	10/04/08
1 - nov	13/11/2007	A6411	15/01/08	04/02/08	16/02/08	16/03/08	31/03/08	10/04/08
1 - nov	13/11/2007	NAND66	15/01/08	10/02/08	23/02/08	20/03/08	29/03/08	13/04/08
1 - nov	13/11/2007	A7321	21/01/08	10/02/08	26/02/08	25/03/08	02/04/08	16/04/08
1 - nov	13/11/2007	TJs2170	20/01/08	10/02/08	23/02/08	22/03/08	31/03/08	15/04/08
1 - dic	05/12/2007	DM3100	08/01/08	21/01/08	04/02/08	02/03/08	12/03/08	26/03/08
1 - dic	05/12/2007	DM3700	11/01/08	22/01/08	07/02/08	04/03/08	15/03/08	28/03/08
1 - dic	05/12/2007	DM4200	08/01/08	22/01/08	15/02/08	04/03/08	15/03/08	30/03/08
1 - dic	05/12/2007	DM4600	11/01/08	25/01/08	13/02/08	11/03/08	18/03/08	30/03/08
1 - dic	05/12/2007	DM4870	13/01/08	01/02/08	16/02/08	10/03/08	18/03/08	01/04/08
1 - dic	05/12/2007	RA514	30/01/08	10/02/08	22/02/08	20/03/08	01/04/08	03/04/08
1 - dic	05/12/2007	A5766	29/01/08	06/02/08	17/02/08	18/03/08	01/04/08	16/04/08
1 - dic	05/12/2007	A6411	30/01/08	11/02/08	22/02/08	22/03/08	04/04/08	16/04/08
1 - dic	05/12/2007	NAND66	01/02/08	11/02/08	24/02/08	23/03/08	03/04/08	20/04/08
1 - dic	05/12/2007	A7321	03/02/08	12/02/08	01/03/08	31/03/08	10/04/08	20/04/08
1 - dic	05/12/2007	TJs2170	03/02/08	13/02/08	29/02/08	28/03/08	08/04/08	25/04/08
2 - dic	18/12/2007	DM3100	20/01/08	27/01/08	11/02/08	10/03/08	20/03/08	29/03/08
2 - dic	18/12/2007	DM3700	21/01/08	28/01/08	13/02/08	14/03/08	22/03/08	03/04/08
2 - dic	18/12/2007	DM4200	19/01/08	29/01/08	15/02/08	12/03/08	22/03/08	03/04/08
2 - dic	18/12/2007	DM4600	23/01/08	04/02/08	17/02/08	14/03/08	25/03/08	04/04/08
2 - dic	18/12/2007	DM4870	29/01/08	07/02/08	18/02/08	16/03/08	27/03/08	05/04/08
2 - dic	18/12/2007	RA514	04/02/08	16/02/08	29/02/08	26/03/08	03/04/08	16/04/08
2 - dic	18/12/2007	A5766	04/02/08	15/02/08	25/02/08	25/03/08	02/04/08	16/04/08
2 - dic	18/12/2007	A6411	07/02/08	18/02/08	02/03/08	29/03/08	08/04/08	20/04/08
2 - dic	18/12/2007	NAND66	09/02/08	19/02/08	05/03/08	01/04/08	08/04/08	22/04/08
2 - dic	18/12/2007	A7321	10/02/08	22/02/08	09/03/08	03/04/08	12/04/08	22/04/08
2 - dic	18/12/2007	TJs2170	09/02/08	22/02/08	06/03/08	03/04/08	10/04/08	20/02/08

**Cuadro II.5:** Fechas de siembra y de los estados fenológicos R1, R3, R5, R6, R7 y R8 de diferentes cultivares de soja para Rafaela, campaña 2008/09.

Epoca de siembra (quincenas)	fecha de siembra	Cultivar	R1	R3	R5	R6	R7	R8
2 - oct	22/10/2008	DM3700	28/11/08	12/12/08	04/01/09	28/01/09	15/02/09	08/03/09
2 - oct	22/10/2008	DM4250	06/12/08	21/12/08	08/01/09	04/02/09	17/02/09	16/03/09
2 - oct	22/10/2008	DM4970	08/12/08	30/12/08	12/01/09	17/02/09	27/02/09	19/03/09
2 - oct	22/10/2008	RA514	25/12/08	11/01/09	09/02/09	07/03/09	16/03/09	04/04/09
2 - oct	22/10/2008	A6411	27/12/08	21/01/09	09/02/09	05/03/09	20/03/09	04/04/09
2 - oct	22/10/2008	A7321	03/01/09	28/01/09	11/02/09	10/03/09	16/03/09	08/04/09
1 - nov	14/11/2008	DM3700	25/12/08	05/01/09	27/01/09	17/02/09	06/03/09	17/03/09
1 - nov	14/11/2008	DM4250	26/12/08	08/01/09	30/01/09	20/02/09	08/03/09	19/03/09
1 - nov	14/11/2008	DM4970	27/12/08	13/01/09	03/02/09	24/02/09	11/03/09	22/03/09
1 - nov	14/11/2008	RA514	17/01/09	30/01/09	20/02/09	18/03/09	30/03/09	08/04/09
1 - nov	14/11/2008	A6411	20/01/09	02/02/09	24/02/09	25/03/09	01/04/09	08/04/09
1 - nov	14/11/2008	A7321	22/01/09	06/02/09	27/02/09	27/03/09	01/04/09	10/04/09
1 - dic	04/12/2008	DM3700	06/01/09	20/01/09	12/02/09	03/03/09	17/03/09	30/03/09
1 - dic	04/12/2008	DM4250	12/01/09	28/01/09	16/02/09	06/03/09	19/03/09	01/04/09
1 - dic	04/12/2008	DM4970	15/01/09	05/02/09	19/02/09	15/03/09	26/03/09	04/04/09
1 - dic	04/12/2008	RA514	02/02/09	12/02/09	05/03/09	29/03/09	03/04/09	10/04/09
1 - dic	04/12/2008	A6411	09/02/09	27/02/09	08/03/09	01/04/09	10/04/09	18/04/09
1 - dic	04/12/2008	A7321	15/02/09	01/03/09	10/03/09	02/04/09	13/04/09	20/04/09
2 - dic	29/12/2008	DM3700	11/02/09	20/02/09	01/03/09	29/03/09	04/04/09	12/04/09
2 - dic	29/12/2008	DM4250	14/02/09	24/02/09	05/03/09	04/04/09	10/04/09	16/04/09
2 - dic	29/12/2008	DM4970	16/02/09	27/02/09	09/03/09	04/04/09	13/04/09	26/04/09
2 - dic	29/12/2008	RA514	24/02/09	08/03/09	21/03/09	13/04/09	22/04/09	05/05/09
2 - dic	29/12/2008	A6411	01/03/09	10/03/09	25/03/09	14/04/09	24/04/09	05/05/09
2 - dic	29/12/2008	A7321	02/03/09	15/03/09	28/03/09	16/04/09	25/04/09	09/05/09

### APÉNDICE III

Cuadro III.1. Análisis de la Varianza

Fuente de variación	SC	GL	GM	F	p-valor
Modelo	26395,62	94	280,80	3,73	<0,0001
Cultivar	8109,93	13	623,84	8,28	<0,0001
Qna de siembra>Blq	530,87	14	37,92	0,50	0,9309
Cultivar*Qna de siembra	17754,81	67	265,00	3,52	<0,0001
Error	25686,12	341	75,33		
Total	52081,74	435			

Cuadro III.2. Análisis de Interacción

Autovalores

Lambda	Valor	Proporción	Prop Acum
1	4.89	0.70	0.70
2	1.58	0.23	0.92
3	0.41	0.06	0.98
4	0.09	0.01	1.00
5	0.02	2.8E-03	1.00
6	0.01	1.0E-03	1.00
7	2.2E-03	3.1E-04	1.00

Escores fila

Variables	e1	e2
A6411	1.88	-0.48
A7321	1.56	-0.78
A7636	2.52	0.01
DM3100	-2.23	2.61
DM3700	-2.13	-1.03
DM4200	-4.35	-1.90
DM4600	-0.27	0.59
DM4870	-1.18	1.46
NANDREA66	0.71	2.5E-03
RA514	1.63	-0.89
TJ2055	1.86	0.41

Escores columnas

Variables	e1	e2
1ra qna DIC	0.45	-0.09
1ra qna NOV	-0.43	-0.05
1ra qna OCT	-0.34	-0.32
2da qna DIC	0.44	-0.14
2da qna NOV	0.45	-0.08
2da qna OCT	-0.22	0.68
2da qna SEP	-0.25	-0.63

## APÉNDICE IV

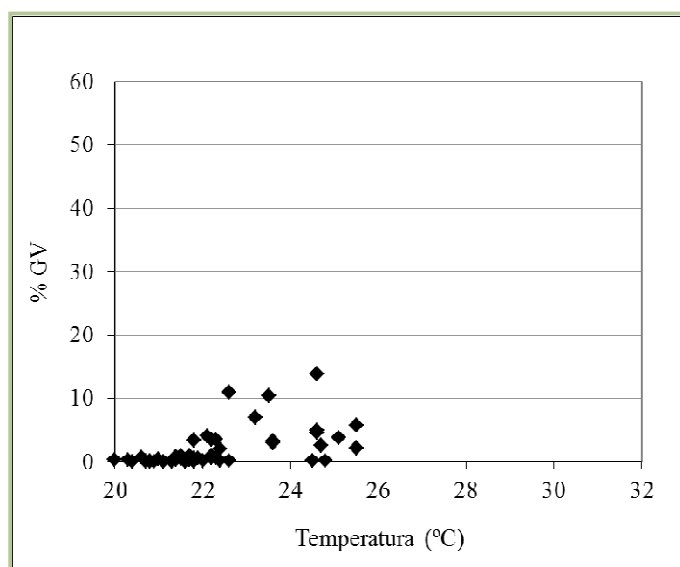


Figura IV. 1: Porcentaje de granos verdes en soja de diferentes genotipos, en relación a la temperatura media diaria promedio en la etapa R6-R7 cuando el déficit hídrico durante R5-R7 fue menor a 35 mm.



APÉNDICE V

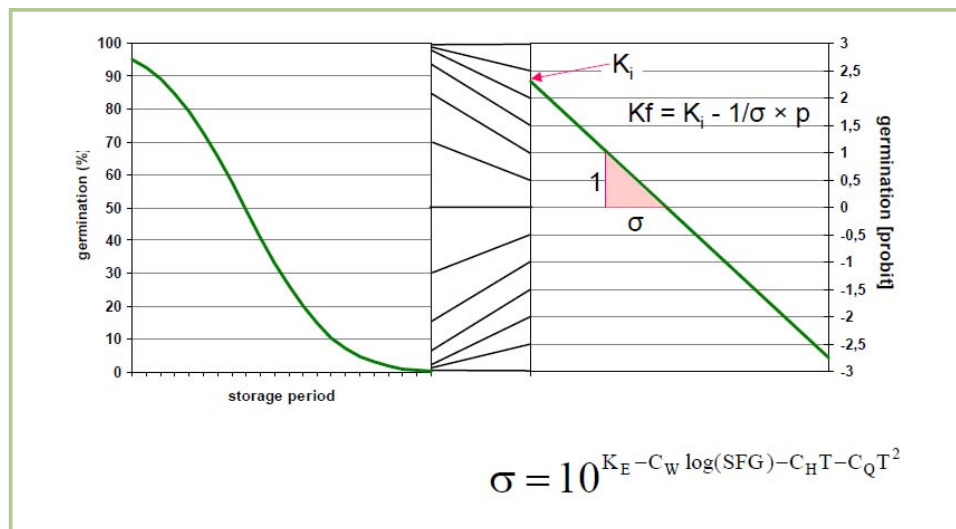


Figura V.1. Transformación de la curva de viabilidad de semillas en escala porcentual hacia la línea en escala probit. (Kruse, et al., 2005).