

ARQUITECTURA Y CARACTERIZACIÓN FISIOLÓGICA DE LA COBERTURA DE PLANTAS DE SOJA *Glycine max* L. Merr. var Júpiter EN CONDICIONES DE CAMPO

R. Urosa A.*; J. Ascencio*

* Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Instituto de Botánica Agrícola. Apartado 4579, Maracay, Venezuela 2101.

RECIBIDO: junio 26, 1990

RESUMEN

Se estudió el desarrollo de la cobertura de plantas de soja *Glycine max* L. Merr. var 'Júpiter' en cultivo de campo. Se muestrearon al azar tres plantas a los 21, 34, 49, 69, 91 y 119 días dividiéndose en estratos verticales proporcionales E₁ (inferior), E₂ (medio) y E₃ (superior) donde se analizaron los perfiles de distribución, peso seco, relación sistema aéreo/radical, razón de área foliar (RAF), área foliar específica (AFE) e índice de área foliar (IAF), concentración de azúcares reductores, sacarosa y almidón. La mayor densidad de AF estuvo siempre en E₃. En hojas expuestas o sombreadas de los estratos de cobertura se hicieron determinaciones anatómicas, de concentración de clorofila y proteína. Los perfiles de AFE, azúcares y almidón sugieren que las hojas en E₃ eran fundamentalmente hojas-fuente. La concentración de clorofila (base fresca) fue similar en hojas expuestas y sombreadas, pero el AF de las primeras fue el doble. La concentración de proteína (base fresca) fue mayor en hojas expuestas. Las características anatómicas de las hojas variaron en hojas expuestas y sombreadas de la misma planta: el espesor y la relación Ames/A disminuyeron con la sombra, el número de tricomas en la epidermis inferior aumentó. El número de estomas y el área de las lagunas internas del mesófilo presentó poca variación, recomendándose como base la relación Ames/A, espesor foliar y RPF en comparaciones relacionadas con fotosíntesis, y área de lagunas internas del mesófilo cuando se comparen hojas expuestas y sombreadas. Se sugieren algunas características de la cobertura de plantas de soja que pudieran optimizar la distribución en la luz.

INTRODUCCION

El problema básico de la agricultura es el de la obtención de altos rendimientos por lo que es necesario conocer las características de un cultivo que pudieran ser determinantes en la productividad. En una plantación de soja se puede observar que las plantas se siembran muy cercanas unas a otras dentro de las hileras (entre 5 a 10 cm) y debido al crecimiento, el cultivo llega un momento en que "cierra" el follaje produciéndose un alto grado de autosombreamiento entre las hojas de una misma planta, así como dentro y entre las hileras. Basándose en las observaciones se planificó la investigación con el objeto de determinar los gradientes de aclimatación de la cobertura en el desarrollo de la planta.

El fin específico del trabajo fue el de analizar en la acumulación de materia seca, azúcares y almidón, perfil de variación y el desarrollo de área foliar, las características anatómicas, morfológicas y fisiológicas de las hojas durante el desarrollo de la cobertura o dosel de plantas de soja *Glycine max* L. Merr. var *Júpiter*.

La mayoría de los procesos fisiológicos se estudian utilizando la hoja como expresión del desarrollo y funcionamiento de la planta; para ello se seleccionan "hojas representativas", en máxima expansión asumiéndose generalmente que todas las hojas dentro de una cobertura poseen la misma capacidad de respuesta.

Por su parte, WELLS, ASHLEY y BOERMA (29) discuten que a través de muchos experimentos se ha podido demostrar utilizando **hojas separadas** de plantas de soja, que existen diferencias en la tasa de fotosíntesis entre cultivares, pero que no han podido demostrar la existencia de una correlación entre la tasa de fotosíntesis y el rendimiento en semilla, WELLS *et al.*, (31). La explicación para esto estriba en que las hojas, al igual que el resto de los componentes de una planta, no funcionan aisladamente y cuando se trata de definir parámetros relacionados con la productividad de los cultivos los estudios a nivel de cobertura son fundamentales.

RAWSON *et al.*, (24), demostraron la naturaleza dinámica de la fotosíntesis, en lo que a la ontogenia de la hoja se refiere, muestreando diferentes hojas en diferente posición en un momento dado del ciclo de desarrollo de la planta. GORDON, HESKETH y PETERS (12), estudiaron los perfiles de fotosíntesis en la sucesión base-ápice de hojas de soja, su relación con la variedad (temprana o tardía) y el estadio de crecimiento. De acuerdo con estos resultados se concluyó que la variación estacional de la fotosíntesis a nivel de hoja refleja, pero no explica totalmente, el comportamiento de la cobertura, ya que se producen variaciones en intensidad de luz dentro de la cobertura durante el desarrollo de la planta.

Las respuestas de las plantas a variaciones en la intensidad se conocen mucho mejor que las debidas a la calidad de la radiación, habiéndose demostrado que al sombrear una planta o parte de ella se inician estrategias para evadir o tolerar la sombra. De acuerdo con GRIME (13), la estrategia de "escapar" de la sombra mediante el desarrollo en extensión de pecíolos y tallos, permitiría a la lámina foliar ubicarse en estratos superiores más expuestos a la luz; como parte de este proceso se favorece también una reducción en el área y espesor foliar. La mayoría de las plantas cultivadas utilizan una estrategia de "escapar" en contraste con la de tolerar la sombra (15).

Generalmente los procesos de adaptación, de tolerancia o de evasión a la sombra, se han estudiado utilizando plantas que, provenientes tanto de hábitat abiertos como sombreados, fueron transferidas a ambientes controlados a diferentes intensidades de luz sin variar la calidad (9, 21, 27). También se han utilizado condiciones de sombra simulada variando la relación Rojo/Rojo Largo (660/730) para una misma intensidad (17, 19, 20, 25). Estas investigaciones han demostrado que tanto la intensidad como la calidad de la radiación tienen un efecto determinante sobre la morfología, anatomía, ultraestructura, bioquímica y funcionamiento de las hojas. La importancia de la caracterización de la cobertura de una planta en investigaciones sobre bioproductividad ha sido justificada por diversos autores (3, 29, 30, 32).

MATERIALES Y METODOS

Material vegetal y cultivo de las plantas: Se utilizaron semillas de soja,

proporcionadas por la Fundación Polar, sembradas en la Estación Experimental de FUSAGRI en Cagua, estado Aragua, (10°11' N, 67°28' O, 440 msnm), a chorro corrido a 3 cm de profundidad y 73 cm de distancia entre hileras. Después del entresaque la población resultante fue de 228 311 plantas ha⁻¹ en una parcela de 272 m². El ensayo se realizó en la estación seca (Enero-Mayo) aplicándose el riego por gravedad. El suelo de textura franco-arcillo-arenoso, estuvo bien fertilizado y no fue inoculado con bacterias nitrificantes; se aplicaron los herbicidas preemergentes Prwol 330E y Alafón a los dos días después de la siembra y una limpieza manual a los 40 días de edad del cultivo. A los 27 días se aplicó el insecticida Lannate, para controlar coquitos perforadores. El ensayo se cosechó obteniéndose 3 041 kg ha⁻¹ de rendimiento de granos.

Diseño experimental y muestreo de plantas: Las plantas se cosecharon de acuerdo a los estados de desarrollo en soja descritos por FEHR y CAVINESS (10) a los 21, 34, 49, 69, 91 y 119 días de edad del cultivo, (estadios V4, V7, R2, R4 y R5-R6). Para el estudio de las características de la cobertura se seleccionaron tres plantas al azar en cada muestreo las cuales se dividieron en tres estratos proporcionales (E₁, E₂, E₃, inferior, medio y superior) definidos por la altura máxima de la planta (Figura 1). Una vez separados los estratos se realizaron las siguientes determinaciones: peso seco de órganos, contenido de almidón, sacarosa y azúcares reductores en las hojas componentes de cada estrato y AF total por estrato. Las raíces de las plantas se muestrearon tomando las que estuviesen dentro de un círculo de 20 cm desde el eje del tallo y hasta 30 cm de profundidad. Con los datos de peso seco total por órgano y de área foliar, se realizó un análisis de crecimiento para el total de la planta y por separado para cada uno de los estratos (E₁, E₂, E₃) utilizándose los procedimientos generales del cálculo clásico descritos en HUNT (14). Se calcularon los índices morfológicos del crecimiento razón de área foliar (RAF), razón de peso foliar (RPF), área foliar específica (AFE), índice de área foliar (IAF) y la relación sistema aéreo/sistema radical (SA/SR).

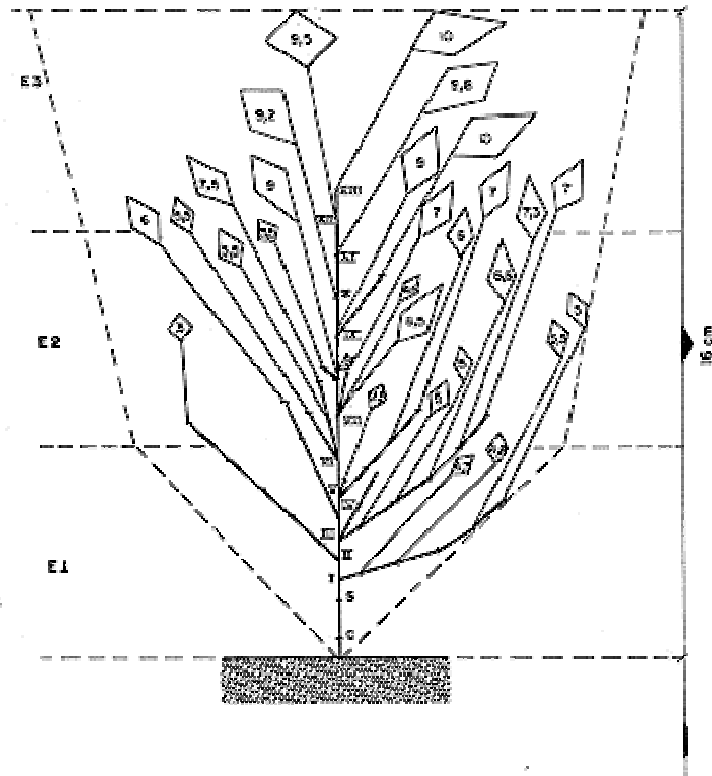


FIGURA 1. Esquema a escala de la arquitectura de la planta de soja var. Júpiter, a los 107 días (R6) de edad de cultivo en condiciones de campo. E1, E2, E3; estratos; líneas gruesas: ramas; líneas delgadas: pecíolo; rombos: hojas trifoliadas (n=ancho del folíolo central en cm); c: nudo de hojas cotiledonarias; s: nudo de hojas simples; I-XII: nudos. Escala 1:6.

Determinación del área foliar: Utilizando una siembra preliminar se tomaron 180 hojas de todos los tamaños posibles las cuales se imprimieron en papel heliográfico, calculándose coeficientes de correlación entre el área y medidas lineales de la hoja tomadas sobre el folíolo central. Se seleccionó el ancho máximo del folíolo central por tener un valor de $r = 0,97$ y por ser la medida más utilizada como estimadora del área en hojas trifoliadas de leguminosas (2). Con el ancho del folíolo central como variable independiente, se calculó la ecuación para estimación del AF $y = 2,96 x^2$ ($r^2 = 0,99$) para valores de x desde 1,8 cm hasta 11,7 cm. Utilizando esta relación que aparece en la Figura 2, se estimaron las áreas para cada una de las hojas en cada uno de los estratos E₁, E₂, E₃ siendo el AF total de cada estrato la sumatoria de las áreas de las hojas individuales.

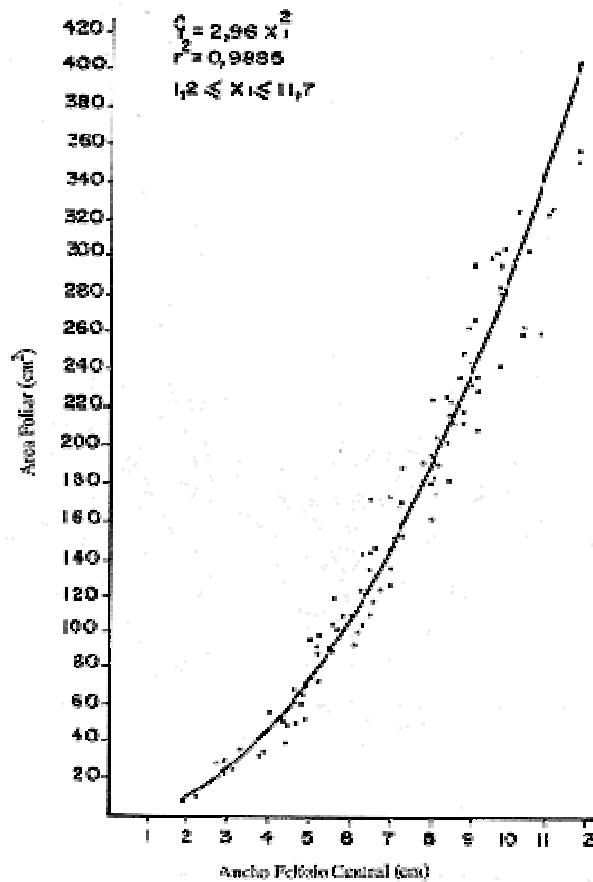


FIGURA 2. Relación entre el área total por hojas y el ancho del folíolo central en hojas de plantas de soja var. Júpiter.

Determinación de la máxima expansión foliar: Para la determinación del momento en que las hojas alcanzaban su expansión máxima, se seleccionaron al azar y se marcaron tres plantas en las cuales se procedió a medir semanalmente el largo y el ancho del folíolo central de cada una de las hojas según iban apareciendo en el tallo principal y ramas secundarias. Las mediciones se realizaron hasta la estabilización de los valores, y con la ecuación para la determinación del AF se estableció el tamaño de hoja a muestrear de acuerdo a su posición en el tallo o rama, que se correspondiera con el momento de la máxima expansión. Así se obtuvo la familia de curvas de cada área para la sucesión foliar base-ápice, que aparece en la Figura 3 (a y b) que se utilizaron en la realización de los muestreos de hojas sombreadas y expuestas. La radiación fotosintéticamente activa (RFA), incidente sobre las hojas expuestas o sombreadas se midió al momento del muestreo con un cuantómetro LI-COR 185-B.

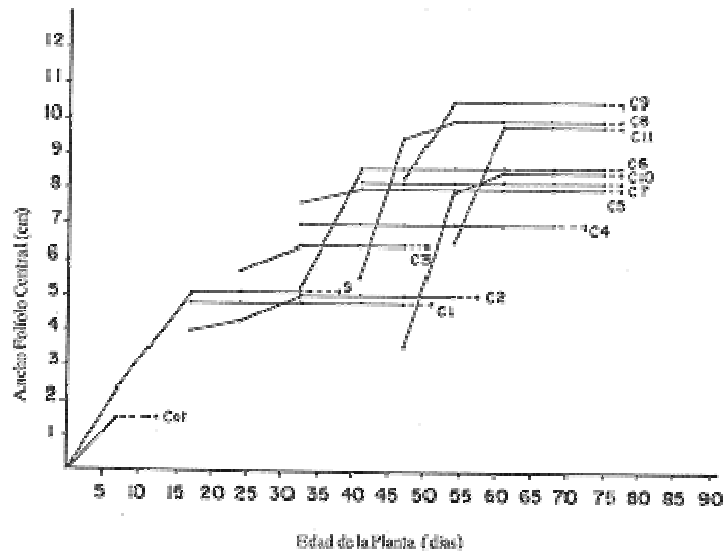


FIGURA 3a. Desarrollo de hojas sucesivas en el tallo principal de plantas de soja en condiciones de campo. (Las líneas punteadas indican el tiempo máximo para el muestreo antes de que ocurra la senectud de la hoja).

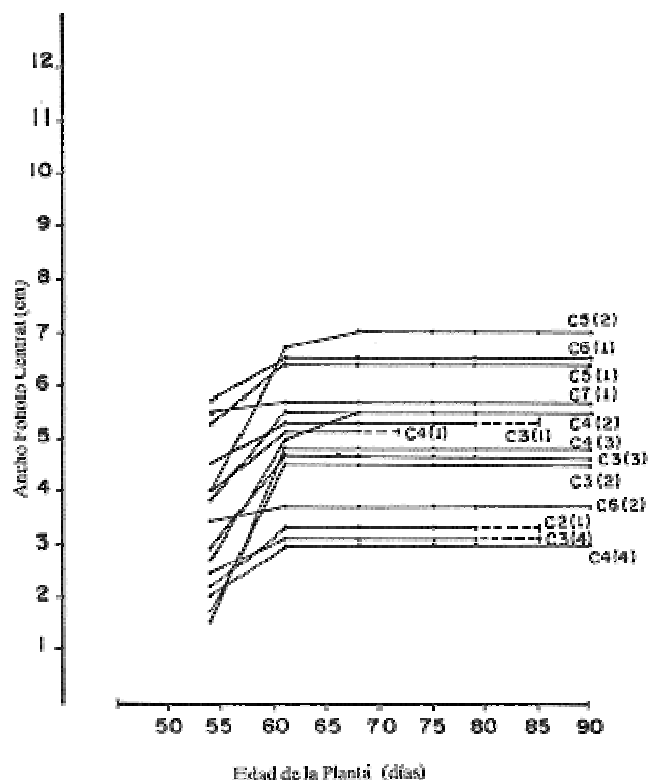


FIGURA 3b. Desarrollo de hojas sucesivas en ramas secundarias de plantas de soja en condiciones de campo. (Las líneas punteadas indican el tiempo máximo para el muestreo antes de que ocurra la senectud de la hoja).

Determinación de almidón, sacarosa y azúcares reductores: Los análisis se realizaron en los Laboratorios de Fisiología Vegetal del Instituto de Botánica Agrícola de la Facultad de Agronomía. Para cada estrato se utilizó una muestra compuesta de las hojas de tres plantas; una vez muestreadas las hojas en máxima expansión, en el campo a mediodía, se trasladaron al laboratorio en una cava con hielo y se colocaron a baño María a 100°C por 10 min, para inactivar amilasas. El material se secó a estufa siendo posteriormente molido en un molino fino de tejidos con malla 40, separándose 3 submuestras de 100 mg para la extracción y análisis de los azúcares. Se utilizaron los procedimientos descritos en (11), para la determinación de almidón, sacarosa y azúcares reductores, mediante la utilización del ensayo con Antrona (7).

Determinaciones de clorofila y proteína: Dentro de cada uno de los estratos E₁, E₂ y E₃ se muestrearon a mediodía hojas tanto expuestas como sombreadas, totalmente expandidas las cuales se guardaron en hielo y se trasladaron al laboratorio. Las determinaciones de clorofila se realizaron previa extracción con acetona 80 v/v de 10 g de tejido foliar fresco entre nervaduras, siguiendo la metodología de ARNON (1). La proteína total se determinó por el método de LOWRY *et al.* (15) previa extracción de 0,5 g de tejido foliar fresco, con buffer Tris 50 mM pH 8,0 precipitándose las proteínas con ácido tricloroacético 1% v/v.

Mediciones anatómicas en las hojas: De tres plantas muestreadas al azar se tomaron 6 discos de 7 mm de diámetro por cada tipo de hoja (sombreada o expuesta) en máxima expansión. Tres de ellos se colocaron en etanol 70% para la realización de aclarado (16) y otros tres en glutaraldehído al 4% v/v con buffer Hepes 10 mM pH 7,4, para la realización de cortes transversales. En los discos aclarados se determinaron el número de pelos tanto en epidermis superior como en la inferior, en dos campos diferentes de 0,25 mm²; el número de estomas en dos campos diferentes de 0,06 mm² y el área de las lagunas internas de mesófilo. Para esto último se utilizó un analizador de imágenes en datos gráficos marca Ladd Mod. AIM-65. A partir de cortes transversales realizados con un micrótopo Sorval MT-2B y observados con un microscopio Zeiss STD 44 provisto de cámara fotográfica, se determinaron el espesor de las diferentes capas de la hoja y la superficie externa expuesta del mesófilo (Ames) mediante microfotografías observadas con el analizador de imágenes. Todas las determinaciones anatómicas fueron realizadas en el Centro de Biología Celular de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los perfiles verticales de distribución y variación de materia seca por órgano (dentro de cada estrato) y la relación SA/SR se pueden observar en el Cuadro 1 y la Figura 4. La distribución de materia seca fue variable entre los diferentes órganos durante el desarrollo del cultivo: en los estadios vegetativos V₄ y V₇ el mayor porcentaje de materia seca se encontró en el estrato superior E₃ disminuyendo hacia las capas medias e inferiores E₂ y E₁ en los estadios R₂, R₄ y R₅-R₆. En los estadios de desarrollo más avanzados, se encontró un mayor porcentaje de materia seca distribuido en el estrato medio E₂. Al final del período de crecimiento y debido a la menor tasa de producción de hojas, la caída de otras y la producción de frutos en la parte media inferior de la planta, el porcentaje de materia seca distribuida en los frutos sobrepasó al del resto de los demás órganos. Es importante destacar que el estrato E₁ desde los 21 hasta los 91 días, estuvo integrado mayormente por tallos hasta que produjeron los frutos que llegaron a constituir el 50% del peso seco del estrato a la proximidad de la cosecha. El estrato E₃ estuvo formado casi exclusivamente por láminas foliares debido al crecimiento en extensión de los pecíolos de las hojas de estratos inferiores que elevó la lámina hacia los estratos superiores menos sombreados por la cobertura. La floración total se produjo dentro del estrato E₂ a los 49 días (estadio R₂) y a los 119 del peso seco del estrato E₂ estuvo integrado casi en su totalidad por frutos (68% del peso seco total de la planta). En este momento (R₅-R₆) el E₂ constituyó el 50% del peso seco total de la planta y el E₁ el 41%.

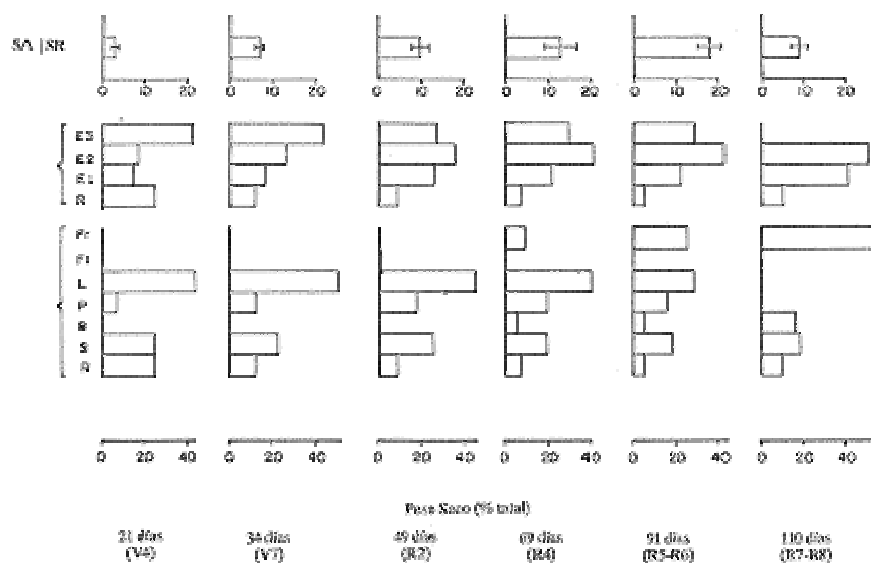


FIGURA 4. Relación Sistema Aéreo | Sistema Rdical (SA | SR) y distribución de la materia seca en diferentes estadios del desarrollo de plantas de soja (e1, e2, e3: estratos verticales de la cobertura; R: raíces; Fr: frutos; F1: flores; L: lámina foliar; P: pecíolos; B: ramas; S: tallos).

CUADRO 1. Distribución de la materia seca (mg) en el tiempo y en el espacio en plantas de soja var. Júpiter en cultivo (datos n = 3 plantas).

La planta de soja a los 119 días estuvo constituida por un 55% de su peso total en frutos, 19% en tallos, 16% en ramas y 10% en raíces. El peso de láminas foliares fue prácticamente despreciable al momento de la cosecha.

En relación con el desarrollo de las raíces, PEREZ *et al.* (23) utilizando la var Júpiter, determinaron a partir de la relación SA/SR, un mayor desarrollo de la parte aérea con respecto a las raíces. En las plantas de soja del presente trabajo, SA/SR aumentó hasta los 91 días debido al mayor desarrollo de la parte aérea y disminuyó al final debido a la caída de las hojas y acumulación de materia seca en las raíces. Cabe destacar que, MITCHELL y RUSSELL (18) encontraron que en ocho variedades de soja la tasa de crecimiento de la materia seca de raíces fue constante en estadios tempranos del desarrollo de las plantas, produciéndose un rápido incremento durante el período de llenado del grano.

La dinámica del crecimiento se registró mediante el análisis de los perfiles verticales de variación de los índices morfológicos de crecimiento AFE, I/AFE, RPF y RAF, tal como se puede observar en el Cuadro 2 y en la Figura 5. En general, el mayor **número** de

hojas se localizó en los estratos E₂ y E₃, pero la mayor **AF** total se concentró en el E₃, debido principalmente a la mayor área de la lámina de las hojas individuales en este estrato (Cuadro 3). De acuerdo a estos resultados, la RAF, fue siempre mayor en E₃ lo que parece indicar que en este estrato la relación entre el material fotosintetizador y el respirante total por planta se inclinó a favor del primero. Esto en parte está corroborado en los valores de RPF, también más elevados en E₃, que sugieren una mayor inversión de peso seco total en la producción de hojas (láminas). Las variaciones en AFE, no mostraron una tendencia definida ni en el perfil de la planta ni en el tiempo; siendo ésta una medida relativa del espesor foliar en términos área/peso, se podría pensar en principio que las hojas en el E₃ son en general más gruesas pero, como la expansión de la lámina hace disminuir el espesor foliar, es de esperarse que la presencia de hojas jóvenes en un estrato produzca un aumento o disminución relativa de los valores de AFE. Este hecho se pone de manifiesto en los coeficientes de variación de estos índices donde interviene el AF (AFE y RAF). Sin embargo la tendencia del AFE total de la planta es de disminuir con la edad tal como se puede apreciar en el Cuadro 2 y en la Figura 5.

CUADRO 2. Índices morfológicos del crecimiento en plantas de soya var. Júpiter en cultivo (datos n = 3 plantas).

Edad	Estratos	AFE (cm ² /mg)	1/AFE (mg/cm ²)	CVAFE (%)	RPF (mg/mg)	CVRPF (%)	RAF (cm ² /mg)	CVRAF (%)
-	E1 (0 - 7)	0	0	0	0	0	0	0
21 (V4)	E2 (7 - 14)	0.38	2.63	14	0.08	22	0.03	18
-	E3 (14 - 21)	0.43	2.33	28	0.36	22	0.15	25
-	Total*	0.43	2.33	27	0.44	22	0.19	24
-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	E1 (0 - 11)	0.30	3.33	17	0.03	19	0.01	18
34 (V7)	E2 (11 - 22)	0.31	3.23	15	0.11	19	0.03	17
-	E3 (22 - 33)	0.55	1.82	26	0.36	19	0.20	22
-	Total	0.48	2.08	24	0.51	19	0.24	21
-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	E1 (0 - 25)	0.32	3.13	21	0.07	17	0.02	19
49 (R2)	E2 (25 - 50)	0.32	3.13	30	0.16	17	0.05	23
-	E3 (50 - 75)	0.32	3.13	16	0.21	17	0.07	16
-	Total	0.32	3.13	10	0.44	17	0.14	13
-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	E1 (0 - 30)	0.70	1.43	88	0.001	37	0.001	62
69 (R4)	E2 (30 - 60)	0.38	2.63	27	0.14	37	0.05	32
-	E3 (60 - 90)	0.26	3.85	44	0.25	37	0.07	40
-	Total	0.30	3.33	32	0.40	37	0.12	34
-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	E1 (0 - 30)	0	0	0	0	0	0	0
91 (R5-R6)	E2 (30 - 60)	0.33	3.03	17	0.06	18	0.02	17
-	E3 (60 - 90)	0.19	5.26	18	0.24	18	0.05	18
-	Total	0.22	4.55	18	0.29	18	0.06	18
119 (R7-R8)	Total	0	0	-	-	-	-	-

(*): Para todas las hojas de la planta

CUADRO 3. Variación del área foliar (AF) en el espacio (estratos) y en el tiempo en plantas de soya var. Júpiter en cultivo (datos n = 3 plantas).

Edad	Estratos (cm)	No. de Hojas	Hojas de Ramas (%)	AF Promedio por Hoja (cm ²)	AF Total (cm ²)	IAF
-	E1 (0 - 7)	0 0	-	0 0	0 0	0 0
21	E2 (7 - 14)	2 0	-	9 1	17 1	0.04 0
(V4)	E3 (14 - 21)	3 0	-	28 10	85 30	0.19 0.07
-	Total*	5 0	-	17 2	103 35	0.23 0.08
-	-	-	-	-	-	-
-	E1 (0 - 11)	2 0	-	12 2	24 4	0.05 0.01
34	E2 (11 - 22)	2 0	-	40 5	80 10	0.18 0.02
(V7)	E3 (22 - 33)	4 0	-	118 40	471 160	1.06 0.36
-	Total	8 1	-	68 16	575 170	1.29 0.38
-	-	-	-	-	-	-
-	E1 (0 - 25)	4 1	-	65 16	261 66	0.59 0.15
49	E2 (25 - 50)	7 1	57.0	81 35	567 250	1.28 0.56
(R2)	E3 (50 - 75)	5 1	-	148 24	740 120	1.67 0.27
-	Total	15 0	-	105 4	1 568 65	3.53 0.15
-	-	-	-	-	-	-
-	E1 (0 - 30)	1 1	100	21 30	21 30	0.05 0.07
69	E2 (30 - 60)	18 6	78	79 14	1 420 266	3.20 0.60
(R4)	E3 (60 - 90)	12 7	58	143 70	1 710 890	3.85 2.00
-	Total	32 10	-	102 20	3 167 889	7.10 1.96
-	-	-	-	-	-	-
-	E1 (0 - 30)	0	-	0	0	0
91	E2 (30 - 60)	9 1	89	115 20	1 039 180	2.34 0.41
(R5-R6)	E3 (60 - 90)	13 2	62	197 39	2 564 510	5.77 1.15
-	Total	23 2	-	159 11	3 603 329	8.12 0.74

(*): Total significa para todas las hojas de la planta.

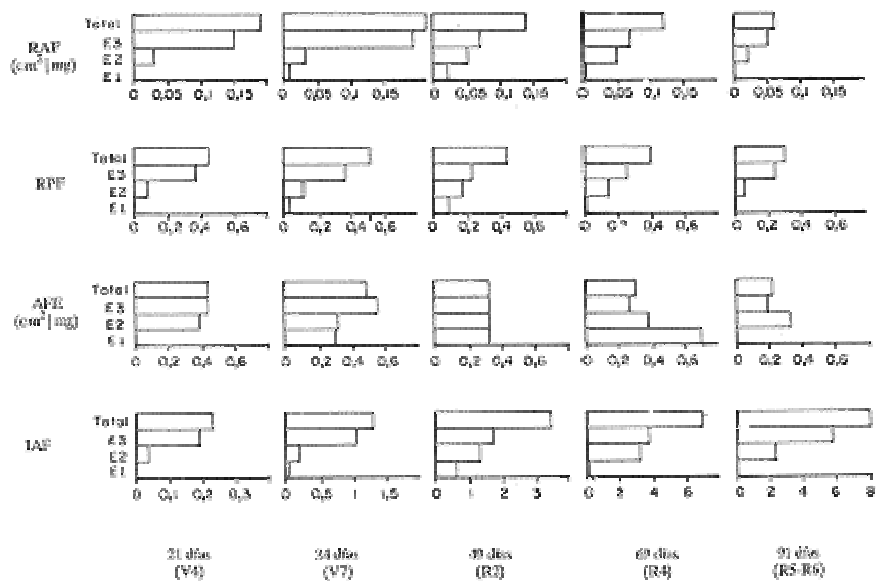


FIGURA 5. Perfiles base ápice y totales por planta de a razón de area foliar (RAF) razón de peso foliar (RPF), área foliar específica (AFE) e índice de área foliar (IAF) a diferentes estadios del desarrollo de plantas de soja.

La RPF y la RAF aumentó desde la base (E_1) hasta el ápice (E_3) de la planta, en cada uno de los estadios de desarrollo; pero la RPF y la RAF total de la planta disminuyó con la edad desde los 21 hasta los 91 días. Estas tendencias son una expresión de que la sucesión foliar en un momento dado refleja los cambios que se producen en hojas individuales con la edad.

El perfil de la variación del IAF, se corresponde a una estructura de la cobertura con una mayor densidad de AF hacia los estratos superiores (Cuadro 3). Esto coincide con la estrategia de desarrollar largos pecíolos observada en las hojas de los estratos E_2 y E_1 que permite exponer la lámina hacia capas superiores de la cobertura (Figura 1).

El IAF, aumentó desde la base hacia el ápice de la planta (E_1 , E_2 , E_3) y también con la edad desde los 21 hasta los 91 días de desarrollo del cultivo. Esto indica que en ningún momento la tasa de producción y permanencia de las hojas en la planta, fue menor a la de su caída.

Como las hojas no están ordenadas en capas continuas, sino que forman ángulos variables de inserción entre el pecíolo y el tallo, es posible encontrar hojas tanto expuestas como sombreadas en un mismo estrato, por lo que no es posible deducir por el mayor el valor del IAF en E_3 que éste es el más sombreado.

Los perfiles de distribución de azúcares reductores, sacarosa y almidón se pueden observar en la Figura 6. La concentración de azúcares reductores se mantuvo casi constante en las hojas de los estratos E_1 , E_2 y E_3 desde el inicio del desarrollo de las plantas hasta la floración (R_2), cuando se observó una disminución en sentido ápice-base. La concentración de sacarosa fue siempre menor en el estrato superior E_3 , aumentando hacia la base; con el almidón se observó la tendencia inversa. Las variaciones observadas en el perfil de distribución de sacarosa se corresponde con un patrón de utilización de este azúcar por los frutos en crecimiento a partir de la floración, después de lo cual se observó una disminución marcada en el contenido de sacarosa en las hojas de los estratos superior y medio. Como se discutió anteriormente, los frutos se localizaron en los estratos E_2 y E_1 por lo que sirvieron de sumideros fuertes a las hojas superiores. Una vez desarrollados los frutos, los azúcares se acumularían como almidón al haber disminuido la demanda de sacarosa en los estratos inferiores y en consecuencia podría explicar la tendencia de las hojas en los estratos E_2 y E_3 de acumular almidón al final del ciclo de cultivo.

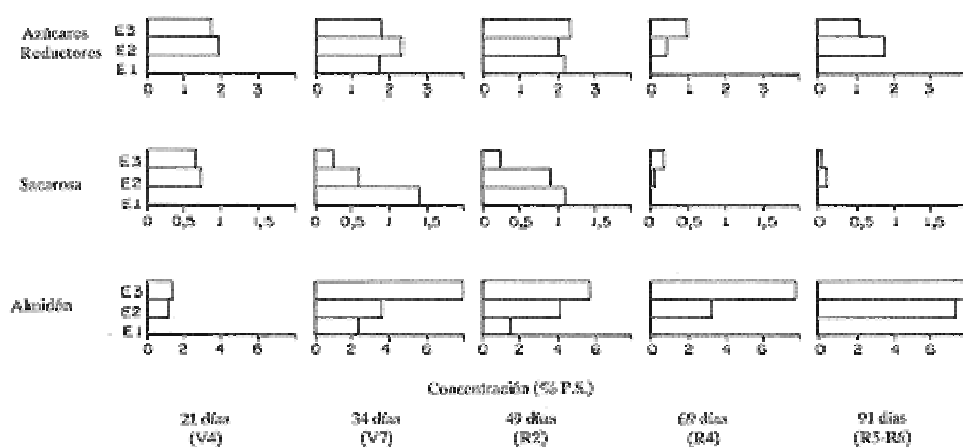


FIGURA 6. Perfiles base ápice de concentración de azúcares reductores, sacarosa y almidón en a materia seca de hojas de plantas de soja en diferentes estadios del desarrollo.

WELLS *et al.* (28) al comparar la fotosíntesis de la cobertura de dos cultivares de soja, encontraron que las hojas de estratos superiores presentaron valores más elevados de concentración de la enzima Ribulosa difosfato carboxilasa oxigenasa (RuBisCo) y proteína soluble, al compararla con la de hojas en estratos inferiores. Las diferencias se debían en parte a variaciones en el espesor de las hojas en los diferentes estratos. Muchos investigadores han demostrado que en soja una mayor intensidad de la luz durante el desarrollo del cultivo, aumenta la tasa de fotosíntesis y la actividad de la RuBisCo a nivel de hoja (26), por lo que si la arquitectura de la planta y la densidad de siembra favorecen una mejor intercepción de la luz por las hojas, un mayor IAF se podría traducir en una mayor cantidad de fotosíntesis por unidad de área de suelo.

Basados en los resultados del presente trabajo se podría inferir que las hojas en el estrato superior E₃ actuaron como fuentes, lo cual explicaría las diferencias en distribución de sacarosa y almidón observada en los tres estratos durante el desarrollo del cultivo. Esta sugerencia adquiere peso al comparar estos resultados con los de WELLS, ASHLEY y BOERNA (29) donde se demostró que las 2/3 partes del carbono se localizaba en el tercio superior de la cobertura de plantas de soja. Igualmente dada la elevada correlación encontrada entre el peso foliar específico (I/AFE) y la tasa de fotosíntesis, tanto a nivel de hoja como a nivel de cobertura en plantas de soja, no es de extrañar que los menores valores del AFE del estrato E₃ durante los estadios R4 y R5-R6 se correspondan con un elevado contenido de almidón en las hojas de los estratos superiores.

Las diferencias en AF y en contenido de clorofila y proteína en hojas tanto expuestas como sombreadas provenientes de los estratos E₁, E₂ y E₃ durante el desarrollo del cultivo, se pueden observar en el Cuadro 4. Durante el desarrollo vegetativo temprano (estadio V4, 21 días), todas las hojas de la cobertura están expuestas, pero, a medida que avanza el desarrollo y las plantas comienzan a sombrarse unas con otras, se empiezan a hacer notorias las diferencias en AF y proteína.

CUADRO 4. Area foliar y concentraciones de clorofila y proteína (base fresca) en hojosexpuestas (E) y sombreadas (S) en diferentes estratos de la cobertura de plantas de soja durante el desarrollo*. (RFA = Radiación Fotosintética-mente Activa).

Edad (días)	Posición de la Hoja*	Condición	REA $\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$	Area Foliar cm^2	Clorofila mg/g PF	Proteína
21 (V4)	C1 (E3)	E	2 200	29.0 10	2.80	15.40
-	-	-	-	-	-	-
34 (V7)	C2 (E2)	S	300	42.8 4.5	1.99	16.4
-	C4 (E3)	E	2 050	116.6 15.2	1.99	20.8
-	-	-	-	-	-	-
49(R2)	C3 (E1)	S	40	87.4 3.7	2.32	13.8
-	C7 (E3)	E	2 040	188.3 21.2	2.31	20.8
-	-	-	-	-	-	-
69(R4)	C3 (1) (E2)	S	100	66.4 5.8	3.60	8.8
-	C11 (E3)	E	2 050	203.3 36.8	3.78	20.6
-	-	-	-	-	-	-
19(R5-R6)	C4 (1) (E2)	S	80	83.4 10.6	3.38	20.6
-	C8 (1) (E3)	E	2 000	245.7 30.2	3.55	24.6

Ver Figuras 1 y 3.

La concentración de clorofila, en base al peso fresco, fue similar en ambos tipos de hojas, pero, el AF de las hojas expuestas fue el doble de las sombreadas. Las hojas de sombra se desarrollaron al final del ciclo de cultivo a medida que la cobertura se fue cerrando; estas hojas, mostraron muchas características anatómicas de hojas de sombra típica y tuvieron menor AF debido a que las hojas evolucionaron al final del ciclo ontogenético de la planta, siendo estas más pequeñas (véase Figuras 1 y 2). En un estudio realizado en algodón (28), se encontró una disminución en la fotosíntesis por unidad de AF y también una reducción progresiva del tamaño de las hojas hacia la parte superior de la planta.

La concentración de proteína foliar, fue mucho menor en hojas sombreadas (Cuadro 4), lo cual coincide con la estrategia de sobrevivencia de las plantas en condiciones de sombra para disminuir sus costos de mantenimiento (5,6). Por otra parte es de esperarse una menor cantidad de la enzima RuBisCo en hojas sombreadas ya que ésta constituye más del 50% de la proteína foliar soluble.

La respuesta de las hojas a la sombra dentro de la cobertura de plantas de soja 'Júpiter', coincide con lo señalado en hojas de plantas provenientes de hábitat naturales abiertos y crecidas posteriormente en la sombra, por lo que parece que las plantas pueden ocupar un amplio rango de ambientes mediante el ajuste de algunas características fenotípicas (4, 8).

En los Cuadros 5 y 6 se pueden observar las variaciones en algunas características anatómicas de las hojas, tanto expuestas como sombreadas, en máxima expansión, proveniente de los diferentes estratos (E_1 , E_2 y E_3) en diferentes estadios del desarrollo del cultivo. Como se puede observar las diferencias se acentuaron hacia el final del ciclo del cultivo, coincidiendo con el cierre total de la cobertura (R4, R5-R6), ya que muchas hojas habían crecido bajo condiciones de sombra desde el inicio de su desarrollo.

CUADRO 5. Estudio de algunas características morfo-anatómicas de las hojas desarrolladas a diferentes intensidades de luz dentro de la cobertura de plantas de soja var. Júpiter durante el ciclo del cultivo (datos n = 3 plantas).

Edad Planta (días)	Tipo de Hoja	Condición de Luz	No. PELOS (en 1 mm ²)		No. ESTOMAS (en 1 mm ²)		Area Laguna Mesófilo (en 1 mm ²) (µm ²)	Ames/A
			Epid. Sup.	Epid. Inf.	Epid. Sup.	Epid. Inf.		
21 (V4)	C1 (E3)*	Exp.	40 ± 4	76 8	216 33	450 116	-	17
34(V7)	C2 (E2)	Som.	44 16	72 8	250 ± 66	517 50	106 1	23
-	C4 (E3)	Exp.	44 8	80 16	250 ± 33	533 ± 50	92 12	27
49(R2)	C3 (E1)	Som.	20 4	68 24	283 33	700 83	87 16	25
-	C7 (E3)	Exp.	28 ± 8	84 8	350 66	600 83	101 ± 1	30
69(R4)	C3 (1) (E2)	Som.	16 4	48 8	250 66	533 133	107 ± 3	18
-	C11 (E3)	Exp.	8 ± 4	12 4	267 ± 33	483 ± 50	111 3	26
91(R5 - R6)	C4 (1) (E2)	Som.	20 4	52 20	133 16	350 ± 66	111 ± 5	12
-	C8 (1) (E3)	Exp.	16 4	28 ± 4	100 16	367 100	117 3	21

(*) Estrato dentro de la cobertura a que pertenece la hoja.

CUADRO 6. Estudio del grosor de las hojas desarrolladas a diferentes intensidades de luz dentro de la cobertura de plantas de soja var. Júpiter durante el ciclo del cultivo (datos n = 3 plantas).

Edad Planta (días)	Tipo de Hoja	Condición de Luz	Total	G R O S O R E S µm				Relación Emp./Esp.
				Superior	Parenquima Empalizada	Parenquima Esponjoso		
21 (V4)	C1 (E3)*	Exp.	198 ± 20	14 0	14 3	88 14	77 8	1.2 ± 0.1
34(V7)	C2 (E2)	Som.	178 17	14 3	14 ± 3	86 11	61 7	1.4 ± 0.1
-	C4 (E3)	Exp.	191 15	14 0	11 ± 0	94 ± 12	66 3	1.4 0.2
49(R2)	C3 (E1)	Som.	209 3	14 0	14 2	102 3	79 11	1.3 0.2
-	C7 (E3)	Exp.	230 ± 10	14 0	14 3	119 7	78 ± 6	1.5 ± 0.2
69(R4)	C3 (1) (E2)	Som.	144 14	11 2	11 2	74 9	44 ± 6	1.7 0
-	C11 (E3)	Exp.	239 ± 17	14 0	11 ± 2	127 ± 11	80 9	1.6 ± 0.1
91(R5 - R6)	C4 (1) (E2)	Som.	120 11	11 1	11 1	62 ± 3	34 ± 6	1.8 ± 0.2
-	C8 (1) (E3)	Exp.	175 36	14 ± 1	11 2	94 25	55 13	1.7 0.1

(*) Estrato dentro de la cobertura a que pertenece la hoja.

El efecto de la intensidad de la luz sobre la relación Ames/A, ha sido demostrado en hojas de plantas individuales desarrolladas a diferentes intensidades de luz, encontrándose que a plena exposición las hojas casi cuatriplifican su espesor, por lo que

la relación Ames/A puede variar desde 11 en hojas de sombra hasta 50 a plena exposición (21). En el trabajo, que dentro de una cobertura a medida que las hojas se van sombreando progresivamente, disminuyen tanto el espesor como en la relación Ames/A. El espesor de la lámina estuvo determinado por el de las capas de parénquima empalizada y esponjoso (Cuadro 6), y varió con el estadio de desarrollo del cultivo y con la intensidad de luz que recibió cada hoja. No se encontraron variaciones en el espesor de las epidermis superior e inferior.

En el resto de las características anatómicas estudiadas en esta investigación se observó lo siguiente: hasta los 49 días de edad del cultivo (R2) no se detectaron diferencias en el número de pelos entre hojas expuestas y sombreadas, pero sí un mayor número de pelos en las hojas sombreadas de plantas a los 69 días (R4) y 91 (R5-R6) días. Esto fue debido principalmente al mayor número de pelos en la epidermis inferior. El número de estomas fue similar en hojas expuestas y sombreadas, y también a través del ciclo del desarrollo de la planta, con excepción de que a los 91 días el número de estomas fue inferior al de edades más tempranas. Por otra parte, aunque las hojas de soja son anfiestomáticas, su número fue superior en la epidermis inferior. El área de las lagunas internas del mesófilo, presentó muy poca variación en hojas expuestas y sombreadas, lo que hace a este parámetro apropiado para comparar tasa de fotosíntesis entre hojas expuestas y sombreadas de esta especie.

Basados en los resultados de este trabajo y en la correlación estrecha entre la tasa de fotosíntesis neta y la relación Ames/A encontrada para diferentes plantas incluyendo la soja (6, 21, 22), se podía concluir en primer lugar que es difícil que exista una hoja representativa, en condiciones de funcionamiento y posición en la planta óptimas que pueda reflejar el comportamiento global del cultivo, de aquí que deban estudiarse las características de hojas individuales y caracterizar adecuadamente la cobertura de un cultivo a lo largo del ciclo del desarrollo en estudios de productividad vegetal. En segundo lugar, para la realización de comparaciones entre variedades desde el punto de vista del potencial fotosintético se sugiere tomar en cuenta la relación Ames/A, el grosor y la RPF y en tercer lugar en el caso de querer mejorar esta variedad de soja se sugieren los siguientes cambios en la cobertura que permitirán optimizar la distribución de luz: hojas más pequeñas, erectófilas y pubescentes, y una mayor ramificación en el estrato superior de la cobertura a fin de lograr una distribución más homogénea del IAF.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen la participación de la profesora Tatiana Mérida del Centro de Biología Celular de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela, en la realización de los estudios anatómicos.

SUMMARY

Plant canopy development throughout ontogeny was studied in soybean plants *Glycine max* L. Merr. var 'Júpiter' growing in the field. Plants were sampled into equal sections (E₁, E₂, E₃) from bottom to top each representing one-third of the height of the canopy. Vertical profiles for dry weight distribution, shoot to root ratio, leaf area ratio, specific leaf area and leaf area index showed that the highest concentration of leaves was always found in the upper canopy layers. Specific leaf area, reduced sugar and starch

concentrations profiles suggested that the leaves in layer E₃ were mainly source leaves. Individual leaves were also sampled and separated into exposed and shaded according to the degree of shading experienced throughout ontogeny, and leaf area, protein and chlorophyll concentrations in leaves having recently attained full expansion at different positions inside the canopy, were compared. Anatomical features were as well examined using leaf cross sections. It appears from the results that phenotypic adjustment through extension growth of petioles inside the canopy was observed as the leaves entered a more shaded environment after complete ground cover, and that differences between shaded and exposed leaves were accentuated at later stages of crop development as many leaves would have been actually growing in the shade. The utilization of Ames/A, leaf thickness and LWR to compare soybeans photosynthetic potential is suggested as well as internal mesophyll surface area in comparisons between exposed and shaded leaves.

BIBLIOGRAFIA

- ARNON, D.I. Copper Enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24:1-4. 1949.
- ASCENCIO, J. Determinación del área foliar en plantas de caraota *Phaseolus vulgaris* L., yuca *Manihot esculenta* Cranz y batata *Ipomoea batatas* L. Poir., utilizando dimensiones lineales y de peso seco de las hojas. Turrialba 35:55-64. 1985.
- BALDOCHI, K.O., S.B. VERMA and N.J. ROSENBERG. Microclimate in the soybean canopy. Agric. Meteorology 28:321-337. 1983.
- BJORKMAN, O. and P. HOLMGREN. Adaptability of the photosynthetic apparatus to light intensity in ecotypes from exposed and shaded habitats. Physiol. Plant 16:889-914. 1963.
- BOARDMAN, N.K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. Annu. Rev. Plant Physiol. 28:355-377. 1977.
- BUNCE, J.A., D.T. PATTERSON and M.M. PEET. Light acclimation during and after leaf expansion in soybean. Plant Physiol. 60:255-258. 1977.
- CHANG. C.W. Starch and its component ratio in developing cotton leaves. Plant Physiol. 63:973-977. 1979.
- CHATTERTON, N.J. and J.E. SILVIUS. Partitioning of photosynthates into starch in soybean leaves during vegetative growth. Agron. Abstr. (Am. Soc. Agron.). pp 8-14. 1978.
- CLOUGH, J.M., R.S. ALBERTE and J.A. TEERI. Photosynthetic adaptation of *Solanum dulcamara* L. to sun and shade environments. Plant Physiol. 64:25-30. 1979.
- FEHR, W. and S.E. CAVINESS. Stages of soybean development Agriculture and Home Economics Exp. Sta. Iowa University of Sci. and Tech. Special Report 80. 1979. pp 11.

- GAINES, T.P. Automated determination of reducing sugars total to sugars and starch in plant tissue from one weighed sample. *J. AOAC*. 56:1419-1424. 1973.
- GORDON, A.J., J.D. HESKETH and D.D. PETERS. Soybean leaf photosynthesis in relation to maturity classification and stage of growth. *Photosynthesis Res.* 3:81-93. 1982.
- GRIME, J.P. *Plant Strategies and Vegetation Processes*. Wiley, Chichester. 1979. 22p.
- HUNT, R. *Plant Growth Curves*. University Park, Baltimore. 1982. 348 p.
- LOWRY, O.H., N.J. ROSEBROUGH, L.A. FARR and R.J. RANDALL. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275. 1951.
- MERIDA, T. *Guías de Microtecnia Vegetal*. Facultad de Ciencias, Escuela de Biología, Universidad Central de Venezuela. Caracas. 1984. Mimeografiado.
- McLAREN, J.S. and H. SMITH. Phytochrome control of the growth and development of *Rumex obtusifolius* under simulated canopy light environments. *Plant Cell Environ.* 1:61-67. 1978.
- MITCHELL, R.L. and W.J. RUSSEL. Root development and rooting patterns of soybean evaluated under field conditions. *Agron. J.* 63:313-316. 1971.
- MORGAN, D.C. and H. SMITH. Control of development in *Chenopodium album* L. by shaded-light: The effect of light quantity (total fluence rate) and light quality (red:farred ratio). *New Phytol.* 88:239-248. 1978.
- MORGAN, D.C. and H. SMITH. A systematic relationship between phytochrome-controlled development and species habitats, for plants grown in simulated natural radiation. *Planta.* 145:253-258. 1979.
- NOBEL, P.S., L.J. ZARAGOZA and W.K. SMITH. Relation between mesophyll surface area, photosynthetic rate and illumination level during development of leaves of *Plectranthus parviflorus* Henckel. *Plant Physiol.* 55: 1067 - 1070. 1975.
- COQUIST, G., L. BRUNES and J.E. HALLGREN. Photosynthetic efficiency of *Betulia pendula* acclimated to different quantum flux densities. *Plant Cell Environ.* 5:9-15. 1982.
- PEREZ, M., J. SEGOVIA y A. BEJARANO. Estabilidad fenotípica para rendimiento de 9 cultivares de soja evaluados en los ensayos regionales uniformes de 1984. Convenio MAC-FONAIAP-FUNDACION POLAR para el fomento de la soja. 1984. 22 p.
- RAWSON, H.M., J.H. HINDMARSH, R.A. FISHER and Y.M. STOCKMAN. Changes in leaf photosynthesis with plant ontogeny and relationships with yield per ear in wheat cultivars and 120 progeny. *Aust. J. Plant. Physiol.* 10:503-518. 1983.
- SMITH, H. Light quality, photoperception and plant strategy. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 33:481-518. 1982.

- TORISKY, R.S. and J.C. SERVAITES. Effect of irradiance during growth of *Glycine max* with photosynthetic capacity and percent activation of ribulose 1,5 biphosphate carboxylase. *Photosynthesis Res.* 5:251-261. 1984.
- WARD, D.A. and H.W. WOOLHOUSE. Comparative effects of light during growth on the photosynthetic properties of NADPME type C₄ grasses from open and shaded habitats. I. Gas exchange, leaf anatomy and ultrastructure. *Plant, Cell and Environ.* 9:261-270. 1986.
- WELLS, R. Response of leaf ontogeny and photosynthetic activity to reproductive growth in cotton. *Plant Physiol.* 87:274-279. 1988.
- WELLS, R., D.A. ASHLEY and H.R. BOERMA. Physiological comparisons of two soybean cultivars differing in canopy photosynthesis. I. Variation in vertical ¹⁴CO₂ labelling and dry weight partitioning. *Photosynthesis Res.* 9:285-294. 1986.
- WELLS, R., D.A. ASHLEY, H.R. BOERMA and B.J. REGER. Physiological comparisons of two soybean cultivars differing in canopy photosynthesis. II. Variation in specific leaf weight, nitrogen and protein components. *Photosynthesis Res.* 9:295-304. 1986.
- WELLS, R., L.L. SCHULZE, D.A. ASHLEY, H.R. BOERMA and R.H. BROWN. Cultivar differences in canopy apparent photosynthesis and their relationships to seed yield and soybean. *Crop Sci.* 22:886-890. 1982.
- WILSON, G.L. and M.M. LUDLOW. The distribution of leaf photosynthetic activity in a mixed grass-legume pasture canopy. *Photosynthesis Res.* 4:145-149. 1983.

