# UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA FACULTAD DE AGRONOMÍA

# DAMPING OFF CAUSADA POR FUSARIUM EN SOJA: EFECTO DE LA ESPECIE Y SU CONTROL

por

Pedro SORHOUET INDART Facundo SOUZA SOLER

TESIS presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Ingeniero Agrónomo

MONTEVIDEO URUGUAY 2019

Tesis apro	obada por:
Director:	Lic. Biología PhD. Silvina Stewart
	Dr. Ing. Agr. Carlos Pérez
	Ing. Agr. Cintia Palladino
Fecha:	23 de abril de 2019
Autores:	Pedro Sorhouet Indart
	Facundo Souza Soler

#### **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar agradecemos enormemente a nuestras familias por el apoyo constante e incondicional durante toda la carrera, siendo el pilar fundamental en todo momento. A la tutora Silvina Stewart por habernos orientado y aconsejado durante todo el proceso, así como también a Marcelo Rodríguez por su buena disposición para ayudarnos en cada tarea.

Así mismo, deseamos expresar el reconocimiento a INIA La Estanzuela, por dejar disponible sus instalaciones e insumos para llevar a cabo cada instancia práctica de este trabajo, así como también a sus funcionarios por toda la información y ayuda ofrecida en todo momento.

Agradecemos también a Sully Toledo, jefa de la sección referencia de la biblioteca de Facultad, quien desempeñó la tarea de revisión y verificación de la tesis.

# **TABLA DE CONTENIDO**

	ágina
PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	Ш
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES	VI
1. INTRODUCCIÓN	1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	3
2.1. CULTIVO DE SOJA	3
2.1.1. Soja en Uruguay	4
2.1.2. Fisiología y fenología de la planta de soja	5
2.2. COMPLEJO DE ENFERMEDADES EN SOJA	9
2.2.1. Enfermedades de implantación	10
2.3. GÉNERO <i>FUSARIUM</i>	11
2.3.1. Importancia del género en cultivos	11
2.3.2. <i>Fusarium</i> en soja	14
2.3.2.1. Enfermedades de implantación provocadas por	
Fusarium	16
2.4. CONTROL QUÍMICO	18
2.4.1. Fungicidas curasemillas en soja	18
3. MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1. LOCALIZACIÓN	25
3.2. PERÍODO EXPERIMENTAL	25
3.3. ESPECIES DEL GÉNERO <i>FUSARIUM</i> UTILIZADAS	26
3.4. INÓCULO DE <i>FUSARIUM</i>	26
3.5. EXPERIMENTOS	27
3.5.1. Pruebas de patogenicidad	27
3.5.1.1. Diseño experimental	27
3.5.1.2. Determinaciones y análisis estadístico	. 28
3.5.2. Efectividad de los curasemillas	28
3.5.2.1. Diseño experimental	28
3.5.2.2. Determinaciones y análisis estadístico	29
4 RESULTADOS	31

4.1. RESULTADOS DE PATOGENICIDAD	31
4.1.1. Efecto de los tratamientos según el ambiente evaluado y	
el momento de medición	31
4.1.2. Efecto de los tratamientos (análisis conjunto de ambos	
experimentos)	33
4.2. RESULTADOS DE EFICIENCIA DE CONTROL DE	
CURASEMILLAS	35
5. <u>DISCUSIÓN</u>	43
0.000000000	4.5
6. CONCLUSIONES	45
7. <u>RESUMEN</u>	46
7. <u>RESUMEN</u>	40
8. SUMMARY	47
0. <u>001/11/1/11</u>	71
9. BIBLIOGRAFÍA	48
	. 0
10. <u>ANEXOS</u>	57

# LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
Descripción de los estados vegetativos y reproductivos en soja	6
2. Clasificación de los principios activos utilizados	20
3. Cronograma de ensayos realizados	25
4. Listado de cepas de <i>Fusarium</i> utilizadas, según localización, cultivar y estado fenológico de las plántulas de las que fueron obtenidas	. 26
5. Listado de tratamientos utilizados, diferenciados por principio activo y concentración, indicando nombre comercial y dosis aplicada	. 28
6. Promedio de plantas emergidas vivas y delta emergencia según tratamiento curasemilla y especie de <i>Fusarium</i>	. 41
7. Promedio de plantas emergidas vivas, emergidas vivas transformado y delta emergencia según tratamiento curasemilla, para el promedio del comportamiento frente a las tres especies de <i>Fusarium</i>	
Figura No.	
Promedio de plántulas de soja emergidas para cada ambiente evaluado según tratamiento, a los 21 días post-siembra para mayo	32
2. Promedio de plántulas de soja emergidas para cada ambiente evaluado según tratamiento, a los 18 días post-siembra para setiembre	e 33
3. Promedio de plantas de soja emergidas según tratamiento evaluado, análisis conjunto de momento de siembra y ambiente	35
4. Promedio de plantas emergidas vivas (EVt) y materia seca (MS) según tratamiento curasemilla, inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i>	36
5. Promedio de plantas emergidas vivas (EVt) y materia seca (MS)	

	según tratamiento curasemilla, inoculadas con Fusarium graminearum	38
6.	Promedio de plantas emergidas vivas (EVt) y materia seca (MS) según tratamiento curasemilla, inoculadas con <i>Fusarium sambicinum.</i>	39
7.	Promedio de plantas emergidas vivas valor transformado, para el promedio de tratamientos, sin considerar testigo, según especie de <i>Fusarium</i>	40

# 1. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial la soja como cultivo de grano, ha sido cada vez más importante, siendo utilizada principalmente para consumo humano y alimentación animal. En Uruguay la producción de soja ha venido creciendo constantemente, siendo actualmente el cultivo de mayor importancia económica. El área sembrada para este cultivo ha ido creciendo ininterrumpidamente hasta la actualidad, llegando a una superficie sembrada de 1.099.000 hectáreas en la zafra 2017/2018 (MGAP. DIEA, 2018).

Este avance del cultivo a nivel nacional e internacional ha ido de la mano de una mayor intensificación agrícola, caracterizada por el uso de siembra directa y limitada rotación de cultivos, provocando entre otras cosas, ambientes propicios para el desarrollo de patógenos. En este sentido el género *Fusarium*, ha ido adquiriendo una incidencia cada vez mayor en este cultivo, caracterizado por ser un organismo patógeno, con una gran cantidad de cultivos hospederos y con mecanismos de resistencia que le permiten sobrevivir en el suelo durante largos períodos de tiempo.

Variados estudios han demostrado la importancia del género *Fusarium* en las pérdidas de rendimiento y calidad para el cultivo de soja, provocadas principalmente por enfermedades como marchitamiento, síndrome de muerte súbita, podredumbre de semilla y plántula, y pudrición de la raíz. Según Stewart y Rodríguez (2016) las principales especies de este género, involucradas en damping off pueden ser; *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. pallidoroseum*, *F. rigidiusculum*, *F. solani*, *F. sporotrichoides*, y *F. tricinctum*.

Fusarium oxysporum se presenta como un complejo de especies muy variable genéticamente y con una amplia distribución a nivel del suelo, pudiendo existir como patogénicos, saprofitos, simbióticos e incluso como agentes de biocontrol. Así mismo *F. graminearum* infecta de manera eficiente las plántulas de soja, como así también reduce o impide la germinación de la semilla, mientras que *F. sambucinum* se asocia a pudrición de raíz y tiene mayor incidencia en soja que en otros cultivos.

Existen muchas medidas de control de las enfermedades ocasionadas por estos patógenos, entre ellas, el uso de semillas de alta calidad y libres de patógeno, la rotación de cultivos, manejo de las condiciones de siembra, y la aplicación de fungicidas curasemillas. Siendo el uso de fungicidas curasemillas una herramienta estratégica de gran utilidad y muy difundida, tanto como método preventivo como curativo de estas enfermedades. Los mismos actúan

de forma directa sobre la carga de inóculo en la semilla y de forma indirecta a nivel del suelo, protegiendo a la semilla y la plántula durante el período de siembra-emergencia.

El presente trabajo tiene como objetivo, en primer lugar, determinar el efecto de diferentes especies de *Fusarium* en la implantación de soja y en segunda instancia determinar el efecto de diferentes curasemillas fungicidas en la implantación de soja según la especie de patógeno.

# 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1. CULTIVO DE SOJA

La soja, *Glycine max* (L) Merr., pertenece a la gran familia botánica de las leguminosas, familia Fabaceae, que incluye unos 500 géneros y más de 12.000 especies (Shurtleff y Aoyagi, 2004). Esta familia incluye también a las habas, lentejas y maní.

Los primeros registros de domesticación de soja anteceden al siglo 11 AC, en el Norte de China. Ya en 1740 fueron enviadas por lo misioneros chinos semillas de soja a Francia. A partir de 1894-1895 Japón registro las primeras importaciones de torta de aceite de soja para su uso como fertilizante (Gibson y Benson, 2005).

Entre la década de 1940 y 1950 los Estados Unidos superaron a China, y finalmente a todo el Oriente en la producción de soja (Singh, 2010). En el inicio de esta década el auge de producción fue como cultivo forrajero para luego ser superado por la producción de granos, creciendo de manera exponencial a partir de 1960, hecho que también ocurrió en otros países como Brasil y Argentina (EMBRAPA, 2001). En el año 1996 se introduce el gen a la soja que le confiere tolerancia al herbicida glifosato. Esto llevó a una mayor expansión de la producción y comercialización (Rocha y Villalobos, 2012). A partir de ese momento Estados Unidos, Brasil y Argentina dominan la producción y exportación a nivel mundial, correspondiendo un 42% del total sembrado al Mercosur y un 33% a Estados Unidos, esto permite cubrir la demanda durante todo el año (Melgar et al., 2011). Parte del crecimiento de la producción sudamericana se explica por la expansión productiva de países como Paraguay, Uruguay y Bolivia (Melgar et al., 2011).

A nivel mundial la soja como cultivo de grano es utilizada principalmente para consumo humano y alimentación animal, así como también es insumo de industrias agrícolas, químicas o combustible (Melgar et al., 2011). Siendo China el mayor consumidor, le siguen la Unión Europea, Estados Unidos y Brasil. En la campaña 2011/2012 Estados Unidos, Brasil y Argentina fueron los principales productores mundiales de soja, seguido por China con una producción significativamente menor (Uruguay XXI, 2013).

## 2.1.1. Soja en Uruguay

La producción de soja en Uruguay se inicia en la década del 70 pero con poca importancia. Sin embargo, el área sembrada de soja ha crecido ininterrumpidamente desde la zafra 2003/2004, donde la misma alcanzó las 247.096 hectáreas, siendo el cultivo de mayor área sembrada en el país (Uruguay XXI, 2018). Según MGAP. DIEA (2016), en la zafra 2015/2016 se alcanzó una superficie sembrada de 1.140.000 hectáreas y una producción de 2.208.000 toneladas, promediando un rendimiento de 1.937 kg/há. Actualmente, en la zafra 2017/2018 la superficie sembrada fue de 1.099.000 hectáreas y una producción de 1.334.000 toneladas, con un rendimiento promedio de 1.214 kg/há, siendo esta zafra una de las peores de la historia (MGAP. DIEA, 2018).

Según Arbeletche y Carballo (2008), la expansión del cultivo de soja esta explicada por diversos factores, como la generalización del uso de los cultivos transgénicos y la siembra directa, la estandarización de labores que incrementan la competitividad y entre otros las medidas de política económica en Argentina.

Así mismo pudo haber estado influenciado por el aumento en la producción intensiva de carne, tanto en países europeos como en China e India, así como también el aumento en la demanda de soja para producción de biodiesel (Blum et al., 2008). Según Lapitz et al. (2004), existió también una apertura de mercados, a nivel regional, reduciéndose considerablemente los precios de los insumos, aumentando el consumo de agroquímicos y uso de maquinaria.

En cuanto a las exportaciones, la última década mostró comportamientos desiguales por año, pero registró un crecimiento progresivo de los volúmenes exportados, con un pico de 3,5 millones de toneladas exportadas en 2013. Desde 2009 la soja es uno de los tres principales productos de exportación del país, y Uruguay se ha posicionado dentro de los seis principales exportadores de soja en el mundo (Uruguay XXI, 2018).

## 2.1.2. Fisiología y fenología de la planta de soja

La soja es una planta de tipo herbácea anual, de ciclo estival, es hermafrodita y autógama, con un largo de ciclo entre 40 y 200 días, dependiendo del grupo de madurez al cual pertenece el cultivar (Blum et al., 2008).

Presenta las dos primeras hojas unifoliadas opuestas y el resto trifoliadas dispuestas de forma alterna. A partir de algunas yemas axilares pueden desarrollarse ramas con una estructura similar al tallo principal. El sistema radical está compuesto por una raíz principal pivotante donde, según el genotipo, la máxima profundidad exploratoria de las raíces principales es próxima a los 2 metros (Kantolic et al., 2006).

Las flores presentan características típicas de las Papilionoideas, forman racimos axilares con 2 a 35 flores cada uno. Las flores presentan un cáliz tubular y cinco pétalos desiguales, cuyos colores varían entre blanco y violeta y un tamaño de entre 5 y 7 mm. Las vainas son pubescentes y de forma achatada y levemente curvada con un largo entre 2 y 7 cm; pueden contener entre 1 y 5 granos pero generalmente presentan 2 o 3. En cada racimo se puede encontrar de 2 a 20 vainas que a la madurez presentan colores muy variados entre el amarillo claro y el marrón oscuro, incluso negro en algunas variedades (Kantolic et al., 2006).

Las semillas son redondeadas con una coloración habitualmente amarilla, el peso promedio aproximado es de 130 mg pero estos valores pueden variar en un rango de 112 mg y 165 mg de peso de cada semilla. La cicatriz de la semilla (hilo) presenta colores diversos desde amarillo a negro pasando por diferentes tonalidades de marrón, es una característica que permite la identificación de los cultivares (Kantolic et al., 2006). El embrión, que constituye el 92 al 94% del peso de la semilla, está compuesto por dos cotiledones y un eje embrionario (epicótilo, hipocótilo y radícula). El tegumento en general, es muy permeable y susceptible de sufrir daños mecánicos y climáticos, así como de ser afectado por enfermedades (Casini et al., 1997).

En el momento que la semilla tiene su mayor peso seco (50-55% humedad) es cuando ocurre la denominada madurez fisiológica (MF), momento en el cual se logran los máximos valores de germinación y vigor. De 15 a 20 días después ocurre la madurez comercial (MC, Fehr et al., 1977). Desde el punto de vista de la calidad de la semilla a cosechar son muy importantes las condiciones ambientales preponderantes en el período comprendido entre MF y MC (Scandiani y Luque, 2009).

Los estados de desarrollo del cultivo de soja y la duración de sus fases dependen de la temperatura y el fotoperíodo. Entre otros factores ambientales como radiación, agua, nutrientes, propiedades edáficas, pero estos últimos no afectan de manera importante este proceso (Kantolic, 2008).

Para la diferenciación de los estados fenológicos, Fehr et al. (1977) desarrollaron una escala (Cuadro 1), la cual requiere la identificación de los nudos para diferenciar los diferentes estados vegetativos, mientras que para diferenciar los estados reproductivos se debe reconocer los diferentes períodos de floración, desarrollo de vainas y maduración de semillas (Fehr et al., 1977).

Cuadro No. 1. Descripción de los estados vegetativos y reproductivos en soja.

No.	Estado	Descripción
VE	Emergencia	Cotiledones por debajo de la superficie del suelo.
VC	Cotiledón	Hojas unifoliadas lo suficientemente desenrolladas para que los bordes no se toquen.
V1	Primer nudo	Hojas de los nudos unifoliados completamente desarrollados.
V2	Segundo nudo	Hojas trifoliadas completamente desarrolladas del primer nudo por encima del nudo unifoliado.
V3	Tercer nudo	Tres nudos del tallo principal con hojas completamente desarrolladas iniciando a partir del nudo unifoliado.
:		
V(n)	N nudo	N número de nudos en el tallo principal con hojas completamente desarrolladas iniciadas a partir del nudo unifoliado. N puede ser cualquier número iniciando con el 1 de V1.
R1	Inicio de floración	Una flor abierta en cualquier nudo del tallo principal.
R2	Plena floración	Una flor abierta en uno de los dos nudos superiores del tallo principal, con una hoja completamente desarrollada.
R3	Inicio de formación de vainas	Una vaina de 5 mm de largo en uno de los cuatro nudos superiores del tallo principal, con una hoja completamente desarrollada.
R4	Plena formación de vainas	Una vaina de 2 cm de largo en uno de los cuatro nudos superiores del tallo principal, con una hoja completamente desarrollada.

R5	Inicio de formación de semillas	Una semilla de 3 mm de largo en la vaina de uno de los cuatro nudos superiores del tallo principal, con una hoja completamente desarrollada.
R6	Plena formación de semillas	Una vaina que contiene una semilla verde que llena la cavidad de la vaina en uno de los cuatro nudos superiores, en el tallo principal, con una hoja completamente desarrollada.
R7	Iniciando madurez	Una vaina normal en el tallo principal que ha alcanzado su color de vaina madura.
R8	Plena maduración	El noventa y cinco por ciento de las vainas que han alcanzado su color de vaina madura. De cinco a diez días de tiempo de secado se requiere después R8 para que las semillas reduzcan su humedad a menos de 15%

Fuente: tomado de Fehr et al. (1977).

Según la revisión bibliográfica realizada por Nakayama (1980), se considera a la soja, como un cultivo de días cortos, dada la sensibilidad de las distintas variedades al fotoperíodo. Cuantos más largos son los días, se retrasa la iniciación floral, dado que disminuye la tasa de desarrollo de primordios florales. El fotoperíodo actúa sobre los meristemas, cuanto más largo es el mismo, aumentan los nudos en el tallo principal, por lo tanto se generan mayor cantidad de ramas y de nudos en éstas, tanto en sojas determinadas como indeterminadas (Kantolic, 2008).

Para diferenciarlas se creó una clasificación de grupo de madurez que va del 000 al X, donde las categorías más bajas presentan umbrales fotoperíodicos más altos. Es decir que en condiciones determinadas de fotoperíodo, tienden a florecer y madurar antes que los grupos de madurez mayores. Estos últimos se adaptan a latitudes mayores (Nakayama, 1980).

El desarrollo de la planta de soja se ve influenciado por la temperatura, según un rango térmico. Es decir que existe una temperatura base, la cual por debajo de está, la tasa de desarrollo es nula y por encima, la tasa aumenta hasta una temperatura óptima, alcanzando la máxima tasa de desarrollo (Kantolic, 2008).

La duración del ciclo de la soja y sus fases de desarrollo están reguladas de forma conjunta por la temperatura y el fotoperíodo, por lo tanto su fenología depende de la respuesta genotípica a ambos factores. Siguiendo esto el desarrollo de los cultivares de grupo de madurez bajos, es más dependiente de la temperatura, que del fotoperíodo, debido a su baja sensibilidad a este factor, mientras que la tasa de desarrollo, al iniciar el llenado de granos está

más regulada por el fotoperíodo que por la temperatura. La dinámica estacional, de estos factores, y la respuesta cuantitativa y continua del cultivo de soja, marca de manera importante el desarrollo según la fecha de siembra y la localidad (Kantolic, 2008).

La soja se diferencia en el hábito de crecimiento, pudiéndose diferenciar tres tipos (determinado, indeterminado y semideterminado). Se diferencian en la posibilidad de generar nuevos brotes vegetativos, luego de iniciada la fase reproductiva (Toledo, 2012).

Cuando es de tipo determinado, al iniciarse la fase reproductiva termina su crecimiento en altura y la formación de nudos en el tallo principal, pero sigue desarrollando ramas laterales y en el extremo apical genera un ramillete floral. Con este hábito, hasta un 20% del ciclo puede haber superposición de fases. Los grupos de madurez VI, VII y VIII tienen este tipo de hábito de crecimiento. Mientras que cuando el hábito de crecimiento es indeterminado, al iniciar R1, la planta continúa diferenciando nudos en el tallo principal, lo que genera que en el 40% o más del ciclo del cultivo se den la superposición de las dos fases de crecimiento. A este hábito se asocian los grupos de madurez II, III, IV y V, como también algunos materiales de los grupos VI y VII (Toledo, 2012).

El hábito de tipo semideterminado es el menos habitual, se caracteriza porque los tallos continúan creciendo vegetativamente, después de iniciada la fase reproductiva (al igual que el indeterminado), para después formar el ramillete floral (como los determinados), con un número intermedio de nudos en comparación con los otros dos hábitos. Hay especies de los grupos de madurez VI y VII con este tipo de hábito de crecimiento (Toledo, 2012).

El cultivo de soja, cubre sus requerimientos de nitrógeno a través del aporte del suelo y fijación biológica del nitrógeno atmosférico (FBN) (asociación simbiótica con bacterias del género *Bradyrhizobium*). Para producir una tonelada de grano de soja se requieren aproximadamente 80 kg de nitrógeno, dentro de un rango entre 53 y 156 (Ferraris et al. 2006, Salvagiotti et al. 2009).

Para lograr el proceso de FBN, a partir del nitrógeno atmosférico, se requiere que las plantas de soja y las bacterias (*Bradyrhizobium japonicum*) generen un intercambio de señales moleculares. La soja a nivel radicular produce sustancias, llamadas flavonoides, que al ser reconocidas por los rizobios, activan y liberan factores de nodulación, desencadenando el proceso de nodulación (Ferraris et al., 2006).

El proceso de acumulación de nitrógeno es lento, principalmente en las primeras etapas de desarrollo del cultivo, pero se incrementa a partir el inicio de

la floración hasta la finalización del llenado del grano. La fijación biológica se puede dividir en tres etapas. Desde la emergencia hasta los 30 días, durante este período el aporte de la fijación biológica es muy bajo, dado que la nodulación se está desarrollando y posee escasa funcionalidad, es aquí que el principal aporte de nitrógeno proviene del suelo. Después de los 30 días de emergido el cultivo el aparato nodular trabaja a la máxima tasa, y se genera la mayor acumulación de nitrógeno del cultivo. La última etapa coincide con el llenado de granos, en donde los granos son el principal destino de los fotoasimilados (carbono y nutrientes), y los nódulos quedan marginados, por ser un destino secundario. Esto lleva a que la tasa de fijación decae, y limita el aporte de nitrógeno al cultivo (Salvagiotti et al., 2009).

#### 2.2. COMPLEJO DE ENFERMEDADES EN SOJA

Según Gally (2006), las enfermedades del cultivo de la soja son factores importantes de reducción de rendimiento y pérdida producción, como así también afectan la calidad del producto. Este efecto es explicado por la acción de hongos, bacterias, virus y nematodos fitopatógenos (Distéfano, 2002). A nivel mundial las pérdidas ocasionadas por estas oscilan entre el 10 y el 15% (Ivancovich, 2011).

La uniformidad de las variedades sembradas, la siembra directa y la escasa rotación de cultivos beneficia la persistencia de los patógenos. Muchos de estos agentes sobreviven en restos de cosecha sobre la superficie del suelo, así como también formando estructuras de resistencia que persisten en el suelo (Litardo, 2014). En lo referente a la rotación de cultivos hay que tener en cuenta que el nivel de inóculo dependerá tanto de las sucesiones de los cultivos como de la sanidad de los mismos (Scandiani y Luque, 2009).

Según Pioli (2000), las enfermedades de soja más difundidas, causadas por hongos pueden agruparse en: las que infectan raíz y tallo, las enfermedades de fin de ciclo que pueden afectar tallos, hojas y semillas y un grupo de hongos que producen tizón de plántulas y muerte de plantas adultas.

Otro de los organismos patógenos del suelo para el cultivo de soja, es el nematodo del quiste (*Heterodera glycines*), el cual actúa como parasito. Este patógeno genera daños a nivel radicular, en interacción con otros factores de tipo abióticos, como son pH del suelo, deficiencias de hierro, etc. y bióticos como patógenos del suelo, principalmente hongos que afectan las raíces, destacándose *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora sojae*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium* spp. y *Phialophora gregata* que si bien ingresa por la raíz afecta fundamentalmente el tallo (Díaz, 2012).

En Argentina, según Lago (2009), las enfermedades más frecuentes de raíz y tallo en soja son: cancro del tallo (*Diaporthe phaseolorum*), muerte súbita (*Fusarium* spp.) y podredumbre carbonosa (*Macrophomina phaseolina*). Según Pioli (2000) existen además, podredumbre de la raíz y base del tallo (*Phytophthora sojae*) y podredumbre marrón del tallo (*Phialophora gregata*). Otras enfermedades que también afectan estas partes de la planta son: podredumbre húmeda del tallo (*Sclerotinia sclerotiorum*), marchitamiento y muerte en rodales (*Rhizoctonia solani*), marchitamiento o tizón de plantas por *Sclerotium* (*Sclerotium rolfsii*), tizón del tallo y de la vaina (*Diaporthe phaseolorum - var. sojae o Phomopsis sojae*, Distéfano, 2002).

Las principales enfermedades foliares de soja en Uruguay, son: tizón bacteriano (*Pseudomonas savastanoi*), pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodis*), tizón de la hoja o mancha bronceada (*Cercospora kikuchii*), mancha marrón (*Septoria glycines*), oídio (*Microsphaera diffusa*), mildiu (*Peronospora manshurica*) y roya asiática (*Phakopsora pachyrhizi*, Stewart 2006, Pérez et al. 2011, 2013). Así mismo Sillon et al. (2011), consideran a *Septoria glycines* y *Cercospora kikuchii* como las principales enfermedades de fin de ciclo en el Uruguay.

Según Goulart (1997), existen diversos patógenos que causan daño a la calidad semillas de soja, entre éstos, destaca: *Phomopsis* spp., *Fusarium* spp., *Colletotrichum truncatum* y *Cercospora kikuchii*.

#### 2.2.1. Enfermedades de implantación

Según Perry (2006), la enfermedad de implantación conocida como "damping off", puede ser causada por una variedad de patógenos que habitan en el suelo y/o acompañan a la semilla. Las semillas pueden pudrirse antes de la germinación, los brotes pueden descomponerse antes de emerger o pueden ser afectados los tallos de plántulas jóvenes.

Las semillas muy infectadas por *Fusarium* spp. pueden presentar una coloración rojiza y una disminución de la germinación. En el caso de que las plántulas sean atacadas antes de emerger, muestran lesiones oscuras y acuosas en los tallos, las áreas infectadas se agrandan e incluso pueden morir. Si logran emerger, sus raíces y tallos también pueden ser infectados (Díaz, 2012).

Según Perry (2006) el tejido joven de plántulas emergentes es menos resistente a la infección cuando las plantas están creciendo lentamente en el suelo húmedo y frío, simplemente porque se prolonga el tiempo de contacto plántula-patógeno. Pudiéndose presentar síntomas como raíces poco

desarrolladas y decoloradas, hipocótilo en forma de gancho amarronado y cotiledones amarronados (Stewart y Rodríguez, 2016).

Los patógenos que causan damping-off están presentes en muchos suelos ya que sobreviven en material en descomposición, como así también producen esporas de resistencia u otras estructuras que sobreviven durante largos períodos de tiempo. Estos pueden ser divididos en dos grupos principales, los hongos que incluyen géneros como *Rhizoctonia* y *Fusarium* y un segundo grupo, que incluye el género Oomycetes, como *Pythium* y *Phytophthora* (Perry, 2006).

Entre las enfermedades de implantación, se encuentran las ocasionadas por hongos que afectan y/o acompañan la semilla. Pueden provenir tanto del campo como infestar durante el almacenaje. Estos se pueden asociar a ocurrencia de lluvia durante la maduración, senescencia prematura de las semillas, retraso de la cosecha, daños por insectos y heladas tempranas, entre otros (Litardo, 2014).

Litardo (2014), señala que los principales microorganismos asociados a semillas de soja en la zona noreste de la provincia de Buenos Aires son: Alternaria spp.; Cercospora kikuchii; Cercospora sojina; Colletotrichum truncatum, complejo Diaporthe-Phomopsis; Fusarium spp.; Peronospora manshurica; Sclerotinia sclerotiorum.

Dentro del complejo damping-off se encuentran patógenos de las especies *Pythium* spp., *Phytophthora sojae*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp. (Stewart y Rodríguez, 2016). Perry (2006) destaca a *Pythium* spp. como el principal responsable de la muerte de plántulas, y Urrea et al. (2013) destacan que estos patógenos pueden actuar de manera individual o en forma conjunta como un complejo, lo que hace muy difícil su control.

Estudios realizados por Rizvi y Yang (1996) en Iowa, reportan las especies de *Pythium* spp., *Phytophthora sojae*, y *Rhizoctonia solani* como principales causas de las enfermedades de las plántulas de soja. Así mismo recientemente, *Fusarium graminearum* se identificó como un patógeno de soja (Ellis et al., 2011).

#### 2.3. GÉNERO FUSARIUM

## 2.3.1. <u>Importancia del género en cultivos</u>

Según Ellis et al. (2011), la condición óptima para el crecimiento vegetativo de *Fusarium* spp. es un período de 12 horas de luz a 25 °C y un

período de 12 horas de oscuridad a 20 °C. En estudios realizados por Wall (1983), a nivel de laboratorio, simulando condiciones de humedad y temperatura, con semillas dañadas mecánicamente, demostró que la colonización por especies de hongos de *Pythium y Fusarium* fue elevada, con temperaturas superiores a 15 °C, más aún con un rango de entre 20 a 25 °C. Al igual que niveles superiores al 20% de humedad en el suelo, hasta 35, no tuvieron diferencias en la colonización de los patógenos.

La mayoría de las especies de *Fusarium* son de hábitos saprofitos, pudiendo permanecer en residuos de cosechas y en el suelo (Gally, 2006). Este género se caracteriza por infectar una gran variedad de cultivos, como maíz, soja y sorgo. Se puede encontrar en rastrojos y suelos, existiendo una gran variedad de especies del mismo género. Muchas especies, se encuentra tanto en plantas aparentemente sanas y enfermas, lo que implica una gran variación de virulencia entre especies y dentro de una misma especie (Broders, 2008).

Según Ellis et al. (2011), una de las especies del género *Fusarium* más importante desde el punto de vista económico es *F. graminearum*, dado que puede afectar diversos cultivos como trigo, cebada, avena, maíz y soja, entre otros, causando daños tanto en estados vegetativos como reproductivos. La amplia gama de cultivos hospederos que presenta este patógeno, acompañado de las actuales prácticas de manejo (siembra con cero laboreo, preservación de rastrojo en superficie y escasa rotación de cultivos) favorecen el ciclo de vida y la supervivencia de este patógeno.

El complejo *F. graminearum* se destaca por estar formado por al menos 16 especies filogenéticas separadas estructural y biogeográficamente. Siendo responsables de la podredumbre del tallo y la mazorca en maíz, fusariosis de la espiga en trigo y cebada, relacionada con sintomatologías en base de tallo, raíz y semillas en soja (Chiotta et al., 2015).

El género *Fusarium*, es considerado uno de los patógenos más importantes del mundo, y presentan la capacidad de sintetizar una amplia variedad de micotoxinas, pertenecientes a tres grupos, los sesquiterpenos (tricotecenos tipo A y B), los derivados de policétidos (fumonisinas) y las lactonas (zearalenona). Una de las especies del género *Fusarium* de importancia en cuanto a la producción de micotoxinas, y específicamente, de deoxinivalenol (DON) es *F. graminearum* (Chiotta et al., 2015). Las especies de *Fusarium* no sólo inactivan sustancias tóxicas producidas por el anfitrión, sino que también producen toxinas propias que aumentan su virulencia. Algunas, tales como eniatinas y ácido fusárico, son fitotoxinas, es decir, que son tóxicos para las plantas, mientras que otros, las micotoxinas, como tricotecenos y fumonisinas, son tóxicas para los animales (Agrios, 2005).

Según Pereyra et al. (2014), la fusariosis de la espiga en trigo, es una enfermedad muy destructiva en zonas húmedas y sub húmedas del mundo, causando importantes epifitias en países de América del Sur, en especial en Uruguay. Está enfermedad es una gran limitante para la producción de trigo, afectando el rendimiento (por esterilidad de las espiguillas y el desarrollo del grano), y la calidad física e industrial. Un factor importante, es la producción de micotoxinas (deoxinivalenol, DON, y zearalenona, ZEA) que afectan la inocuidad del producto final, y generan importantes inconvenientes para su comercialización.

Kohli et al. (1995), han revelado la importancia económica y las pérdidas de rendimiento a nivel mundial por la fusariosis de la espiga en trigo, por el deterioro de la calidad de los granos. Afecta diferentes zonas del mundo, al punto de ser considerada una enfermedad endémica en varias de ellas. En Asia, los dos países más afectados son China y Japón. En Europa, se reportan grandes epidemias en Alemania, Polonia, Países Bajos, Reino Unido, Republicas Checoslovacas, Rusia y Austria, incluso desde el siglo XIX, al igual que en Estados Unidos. También se han detectado casos en la zona costera del norte de África, norte de Estados Unidos y sur de Canadá, altiplanos de Méjico, y Sudamérica (Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay). La gravedad puede variar en función de las condiciones predisponentes de cada zona, existiendo un amplio porcentaje de pérdidas.

En Uruguay, en la década del 70 la ocurrencia de condiciones climáticas favorables para la enfermedad se dio en forma esporádica, una ocurrencia de 1 año en 16, pero luego de la epidemia de 1993, la frecuencia pasó a ser de 1 año en 11. Mientras que en los años 2001 y 2002, la frecuencia pasó a ser de 1 año de cada 8. En los últimos años la frecuencia de ocurrencia de fusariosis de la espiga es cada vez mayor y más importante (Díaz y Pereyra, 2011).

La especie predominante en Uruguay, para fusariosis de la espiga en trigo es *Fusarium graminearum*, pero también están presentes *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. cortaderiae*, *F. asiaticum*, *F. brasilicum* del quimiotipo NIV. En cebada, la especie más frecuente también es *F. graminearum*, seguida por *F. poae* y *F. equiseti*. Así como también, *F. avenaceum*, *F. sambucinum*, *F. trincictum*, *F. semitectum* y *F. chlamydosporum*. Cada vez más se detectan, a nivel mundial y regional, especies del género con mayor toxicidad, patogenicidad, y sensibilidad a los distintos controles químicos (Pereyra y Dill-Macky 2010, Pereyra et al. 2014).

Chiotta et al. (2015), evaluaron diferentes fuentes de inóculo para el cultivo de soja, de las distintas especies del género *Fusarium*. Encontrándose inóculo en el aire, vainas, semillas, rastrojo de maíz y de maní. Destacando que para *F. graminearum*, los rastrojos de cultivos antecesores, es la mayor fuente de inóculo, en comparación con otras.

En base a Pereyra et al. (2014), *F. graminearum*, tiene la capacidad sobrevivir en la chacra, luego de la cosecha, dado que se comporta como saprofito principalmente en los rastrojos de trigo, cebada, maíz, así como también en sorgo, girasol y soja. Lo que genera que, en Uruguay, por la rotación agrícola predominante, este presente durante todo el año.

Estudios realizados por Celetti et al. (1990), determinaron que dentro del género *Fusarium*, la incidencia de *Fusarium sambucinum* se asocia a pudrición de raíz y es mayor en soja que en otros cultivos, como por ejemplo tréboles, chícharos, raigrás, cebada, trigo, papa. A su vez, los cultivos de leguminosas tienen una gran incidencia de *Fusarium solani*, más que los cultivos de gramíneas, mientras que *Fusarium oxysporum* es más frecuentes en soja y cebada que en trigo, raigrás y trébol.

Fravel et al. (2003), destacan que *Fusarium oxysporum* se encuentra presente en la microflora de la rizósfera, y presenta una gran diversidad a nivel del suelo, incluyendo especies consideradas patógenas, simbióticas, agentes de biocontrol y otras saprófitas (Díaz et al., 2013a). Algunas cepas de esta especie se asocian a pudriciones de raíces en varios cultivos, en especial de leguminosas (Kraft et al., Skipp et al., Tu, citados por Celetti et al., 1990).

Broders et al. (2007), demostraron que en Ohio, si bien *F. graminearum* es un importante patógeno en semillas y plántulas de maíz y soja, no todas las especies de *Fusarium* presentes en el suelo son agentes patógenos. Estudios realizados por Rizvi y Yang (1996), determinaron que muchas especies de *Fusarium* actúan como colonizadores secundarios, a diferencia de patógenos primarios como *Pythium*, *Phytophthora* o *Rhizoctonia*.

# 2.3.2. *Fusarium* en soja

Las principales enfermedades causadas por este género en soja en los Estados Unidos son: marchitamiento, síndrome de muerte súbita, podredumbre de semilla y plántula, y pudrición de la raíz, causada por numerosas especies (Díaz et al., 2013a). Algunas especies afectan la emergencia de plántulas, provocan plántulas atrofiadas y con crecimientos débiles, además de mermas en el rendimiento (Zhang et al., 2013).

Fusarium solani sensu lato es el agente causal del síndrome de muerte súbita en el cultivo de soja. Los síntomas de esta patología incluyen pudrición de raíz, necrosis de corona, decoloración vascular en raíces y tallos, clorosis y necrosis intervenal en hoja, defoliación prematura, y aborto de vainas (Jin et al., 1996). Según Queiroz et al. (2004) esta enfermedad se caracteriza por el síntoma de hoja "carijó", en el cual hay manchas necróticas intervenal, pero las nervaduras permanecen en estado normal, se hace evidente en la fase reproductiva, siendo capaz de generar una defoliación completa. Estudios posteriores determinaron que Fusarium solani es en realidad un complejo de especies de Fusarium, cuatro de las cuales causan el síndrome de muerte súbita; F. verguliforme, F. tucumaniae, F. brasiliensis y F. crassistipitatum (Aoki et al., 2003, 2005, 2012).

Las especies de *Fusarium* asociadas a semillas de soja más frecuentes son *F. semitectum* y *F. graminearum*, además pueden encontrarse *F. equiseti, F. verticilloides* y *F. semitectum* asociados a semillas que sufrieron atraso en la cosecha o deterioro en el campo (Litardo, 2014). Por otra parte Gally (2006) asocia la podredumbre de semilla a las siguientes especies, *F. semitectum, F. equiseti, F. solani, F. moniliforme, F. oxysporum, y F. graminearum*, entre otras.

En un estudio realizado por Díaz et al. (2013b), en lowa, donde se evaluó la distribución y frecuencia de especies de *Fusarium* spp. asociadas a enfermedades de raíz de soja, se identificaron quince especies. Las de mayor prevalencia fueron *F. oxysporum*, *F. acuminatum*, *F. graminearum* y *F. solani*, existiendo variabilidad en las especies encontradas según el estado fenológico del cultivo. Por ejemplo, *Fusarium oxysporum* predomina en el estado vegetativo, sin embargo *F. acuminatum*, *F. graminearum*, y *F. solani* fueron encontrados con mayor frecuencia en estado reproductivo.

En estudios realizados por Zhang et al. (2013), aislaron 8 especies del género Fusarium (F. oxysporum, F. graminearum, F. solani, F. avenaceum, F. tricinctum, F. sporotrichioides, F. equiseti y F. poae) en raíces de soja en Canadá y determinaron que su agresividad varía en función de la rapidez de colonización de las raíces.

Estudios realizados por Nyvall (1976), en lowa demostraron grandes diferencias en la colonización de las distintas especies de *Fusarium*, siendo el *F. oxysporum* el predominante en las partes bajas de tallos y raíces y con menor frecuencia en tallos superiores, vainas y semillas. Destacando que esta especie frecuentemente tiene actividad saprofita en tejido senescente, pero cuando los tejidos muertos son colonizados previamente por otras especies no se lo encuentra.

Ellis et al. (2014), al igual que Farias y Griffin (1990) afirman que *F. oxysporum* puede actuar como agente patogénico o no, lo que contribuye a pensar en el uso de este hongo como agente de control biológico. Por otra parte ensayos de patogenicidad, realizados en invernáculo, por Killebrew et al. (1993), dieron como resultado que *F. solani* provocó pudrición de raíz y damping off en pre emergencia, mientras que *F. oxysporum* y *F. acuminatum* no actuaron como patógenos en plántulas de soja.

#### 2.3.2.1 Enfermedades de implantación provocadas por Fusarium

Fusarium puede provocar podredumbre de semilla, de plántulas (pre o post emergencia) y de raíces, reduciendo la germinación y el vigor (Litardo, 2014). Según González y Rossi (2016), las semillas infectadas con Fusarium spp., entre otros hongos, fallan en la germinación causando muerte de plántulas en pre o post emergencia.

Fusarium coloniza las cubiertas, los cotiledones, radícula y plúmulas y si el daño es muy severo puede llegar a ocasionar la muerte de la semilla (González y Rossi, 2016). La infección, generalmente se localiza a nivel de tegumento, excepto en infecciones severas donde puede pasar al cotiledón. Esto se evidencia con un desarrollo micelial algodonoso de colores rosa claro, amarillento o blanco (Gally, 2006). Pueden presentar coloraciones rojizas y germinación demorada y reducida (Stewart y Rodríguez, 2016).

Stewart y Rodríguez (2016) afirman que cuando el agente causal de damping off es *Fusarium* pueden haber varias especies involucradas: *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. pallidoroseum*, *F. rigidiusculum*, *F. solani*, *F. sporotrichoides* y *F. tricinctum*.

En base a la revisión realizada por Ellis et al. (2011), se relevó que las condiciones óptimas de germinación de *F. graminearum* (macroconidios) son humedad relativa ambiente mayor al 80% (dato obtenido en oscuridad a 20 °C), mientras que para el crecimiento de la fase vegetativa de este género, se requieren 12 horas de luz a 25 °C, y otras 12 horas de oscuridad a 20 °C. En base a lo analizado, se deduce que las temperaturas entre 20 y 25 °C, serían las óptimas para el desarrollo del hongo, pero a su vez, estás temperaturas promueven una rápida germinación de la semilla de soja, coincidiendo con lo establecido por Stewart y Rodríguez (2016).

En Ohio las enfermedades en plántulas por *F. graminearum* han aumentado, asociado a fechas de siembras tempranas, donde se dan condiciones de temperatura del suelo más frías y con mayor humedad, que favorecen al patógeno. Asociado a esto se relacionan las prácticas de manejo,

en la cual se conserva el rastrojo en superficie, lo que genera mejores condiciones de crecimiento y supervivencia para el hongo (Ellis et al., 2011).

Fusarium graminearum infecta de manera excelente las plántulas de soja, como así también reduce o impide la germinación de la semilla. Las plántulas infectadas presentan lesiones con tejidos necrosados en raíces y semillas. Las lesiones son de color marrón, con una gran variación de tamaño, afectando todo el sistema radicular (Broders et al., 2007). Según Ellis et al. (2011), las semillas de soja infectadas por *F. graminearum* pueden presentar coloraciones rosadas a rojiza, o no presentar síntomas.

En la revisión realizada por Sella et al. (2014), describen a *F. graminearum* como un agente causal de damping off y pudrición de corona y raíz en etapas tempranas del desarrollo del cultivo, en América del Sur y Norte. Los resultados obtenidos por Barros et al. (2014), demuestran que todas los aislados del complejo de *F. graminearum* estudiados reducen la emergencia de plántulas de soja, causando damping off.

Según Farías y Griffin (1990), *F. oxysporum* es un colonizador temprano durante la germinación de plántulas de soja. Encontrando principalmente a esté patógeno en los cotiledones y el hipocótilo de la soja. Algunos aislados de este género producen lesiones y reducen la tasa de emergencia de plántulas, la altura del vástago y el peso (materia seca). Así como también puede ocasionar damping off, marchitamiento y pudrición de raíz en condiciones de suelos anegados, con temperatura ambiente fresca (entre 14 a 23 °C), seguido por temperaturas altas y condiciones secas (Ellis et al., 2014). Schlub (1981) sostiene que también produce semillas con baja germinación y plantas atrofiadas.

Farías y Griffin (1990), encontraron que *Fusarium oxysporum* coloniza los cotiledones de la soja, un día después de sembrada (en suelos con presencia de este patógeno), y a los cuatro días de implantada está presente en el 25% de los tejidos, afectando el hipocótilo inferior y las raíces emergentes. Después del cuarto día de sembrado afecta la porción superior del hipocótilo elongado. La zona de transición entre el hipocótilo y la raíz tiene una alta frecuencia de ser colonizado rápidamente (a pocos días de ser sembrada).

Se determinó para aislados de *Fusarium oxysporum* una gran variabilidad (20 a 75%) para provocar damping off en plántulas de soja, afectando principalmente a nivel de cotiledones (Díaz et al., 2013a). En ensayos de agresividad realizados por Broders et al. (2007) en invernáculo demostraron que todos los aislados de *F. graminearum* tuvieron niveles de media a alta

agresividad, mientras que ninguno de los aislados de *F. oxysporum* evaluados fueron patógenos de semilla de soja.

Así mismo, en un ensayo realizado por Yasem de Romero et al. (2000), donde se evaluó la agresividad de tres especies de *Fusarium*, se comprobó que *F. oxysporum* fue la especie más agresiva (56% de emergencia relativa con respecto al testigo) y *F. graminearum* fue la menos agresiva (81% de emergencia relativa), mientras que *F. solani* presento una agresividad intermedia (71% de emergencia relativa).

Marcinkowska (1985), en ensayos de patogenicidad de semillas con distintas especies de *Fusarium*, determinó que *F. sambucinum* disminuye significativamente la germinación de semillas de soja, al igual que *F. culmorum* y *F. avenaceum*.

## 2.4. CONTROL QUÍMICO

Control químico en cultivos refiere al uso de químicos para inhibir a un patógeno en alguna etapa de la patogénesis. La mayoría son fungistáticos, bacteriostáticos, no destruyen sino que inhiben el desarrollo del microorganismo. Existen los de amplio y de reducido espectro de acción, además existen los de sitio de acción específicos y los de múltiples sitios de acción. En general coincide que los fungicidas de contacto son de múltiples sitios de acción, mientras que los fungicidas que penetran a la planta en general son sitio específicos (Gepp y Mondino, 2011).

Los fungicidas sirven para reducir el inóculo, para proporcionar protección antes de que el inóculo entre en contacto con las plantas hospedantes, o en algunos casos para curar después de que el patógeno haya infectado al hospedante (Kohli, 1995). Pueden actuar de manera química o física. La forma química es a través de reacciones con enzimas, o precipitación de proteínas, que llevan a la muerte del hongo. Mientras que la forma física, es a través de la dilución de la biofase y así inhibir los procesos celulares de los hongos (Barcenas, 2005).

## 2.4.1. Fungicidas curasemillas en soja

El término "curasemillas" se asocia con la aplicación de un plaguicida o fungicida sobre la semilla, es un proceso destinado a reducir, controlar o repeler a organismos patógenos, insectos u otras plagas que atacan las semillas o plántulas (Zarza y González, 2010).

El uso de compuestos químicos como tratamiento de las semillas para evitar el damping-off se inició en el siglo XVII, luego en 1913 con el desarrollo de compuestos orgánicos en base a mercurio se inicia el uso frecuente de dichos productos (Walker, 1948). El lanzamiento del triamifos (primer fungicida sistémico), en 1960 permitió colocar el producto en los tejidos de la planta. Posteriormente, en la década del 1970, se introdujo el primer producto fungicida sistémico foliar y en la década de 1990, se produjo el lanzamiento de nuevos y modernos fungicidas e insecticidas (FIS, citado por Zarza y González, 2010).

Los compuestos derivados del cobre y el azufre, utilizados como fungicida inorgánico, son los más antiguos para el control de enfermedades, siendo sulfato de cobre, uno de los primeros fungicidas utilizados como curasemillas (Alpuche, citado por Barcenas, 2005).

Existen en forma general los fungicidas de contacto y los sistémicos. Los primeros actúan sobre los patógenos de la superficie del tegumento de la semilla y tienen un amplio espectro de control, por el contrario los sistémicos, actúan una vez que comenzó el proceso de germinación, protegiendo a la plántula durante los primeros estadios de crecimiento (González, 2006). Según Henning (2005), la función de los fungicidas de contacto es proteger la semilla de los hongos del suelo y la de los fungicidas sistémicos es controlar los hongos presentes en las semillas. Estos últimos protegen a la semilla y plántula durante el período de siembra y emergencia, aproximadamente hasta los 21 días, dependiendo de la formulación, del principio activo, del patógeno y de la humedad del suelo (Scandiani y Luque, 2009).

Los fungicidas curasemillas se utilizan principalmente con el objetivo de permitir la germinación de las semillas infectadas, el control de patógenos transmitidos por semilla y proteger a las mismas de los hongos del suelo (Henning, 2005). Están destinados a controlar las enfermedades que causan podredumbre de semillas y "damping-off" en pre y post emergencia (Reznikov, 2011). Los hongos presentes en la semilla se activan junto con la germinación y en el caso de que la semilla este curada, el patógeno es inhibido antes de empezar a infectar, siempre y cuando el producto sea efectivo para ese patógeno (Scandiani y Luque, 2009).

Los fungicidas curasemillas han tenido una evolución muy grande en los últimos años, utilizándose los nuevos fungicidas de carácter sistémico y de amplio espectro, a menores concentraciones, con menor riesgo para la semilla y con nuevos modos de acción (Urrea et al., 2013).

En el caso de contar con semillas de alta calidad, el objetivo del tratamiento es proteger a la semilla y plántula durante el período de siembra-

emergencia (Scandiani, s.f.). Semillas de buena calidad (poder germinativo mayor a 90%) tienen menor respuesta al tratamiento fungicida, pero esto no significa que el mismo pierda eficiencia, sino que el tratamiento debe ser adecuado según la problemática o riesgo que presenta el lote (Scandiani y Luque, 2009).

Siembras tempranas, generan que las semillas tengan mayor probabilidad de estar en condiciones poco favorables para la germinación, lo que incrementa el nivel de estrés de las mismas, esto lleva a que los curasemillas tengan que proteger por más tiempo de manera adecuada la semilla (Broders, 2008).

El uso de fungicidas curasemillas puede tener efectos directos sobre la carga de inóculo presente en la semilla e indirectos sobre los hongos del suelo por producir una emergencia de plántulas más vigorosas (Gamba, 2008). Si bien el tratamiento químico de las semillas ayuda a erradicar los patógenos que estén localizados, tanto interna como externamente, también debe contribuir a proteger las semillas y plántulas de los hongos del suelo (González, 2006).

Existen diferencias en el porcentaje de control de los productos, que dependen de varios factores, como puede ser, la sanidad de la semilla, incidencia y severidad de los patógenos presentes, formulación, principio activo y tipo de acción del fungicida (Cuadro 2), además de los atributos de calidad de la semilla (Scandiani y Luque, 2009).

Cuadro No. 2. Clasificación de los principios activos utilizados.

Principio activo	Grupo químico	Acción
fludioxonil	fenil pirrol	De contacto. Con efecto residual. Inhibe la germinación de conidios y algo el crecimiento micelial.
metalaxil-M		Sistémico, protector y curativo. Con efecto residual.
metalaxil	acilalanina	Inhibe la síntesis de proteínas interfiriendo con la síntesis de ARN ribosomal.
carbendazim		Sistémico, protector y curativo.
thiabendazol benzimidazol		Inhibe la mitosis, afectando el crecimiento y desarrollo.
metil tiofanato		
thiram	ditiocarbamato	Protector de contacto.

azoxistrobin	ostrobilurina	Protector, curativo, translaminar. Con propiedades sistémicas. Inhibe la germinación de esporas al impedir la
piraclostrobina		respiración mitocondrial.

Fuente: adaptado de Manual de...(2017).

En un estudio realizado en Dakota del Norte por Bradley (2008), en el cual se evaluó la efectividad de diferentes tratamientos de fungicidas en soja, se observó que cuando la semilla es tratada con fungicida produce un mayor rendimiento en comparación con las semillas no tratadas, aunque el efecto varía según condiciones ambientales.

Por otra parte, González (s.f.), evaluó el efecto de los fungicidas curasemillas en el control de *Fusarium* spp. *Cladosporium* spp., *Alternaria* spp., *Aspergillium* y *Penicillium* spp. y concluyó que los tratamientos curasemillas fueron efectivos en el control de hongos patógenos y contaminantes, con respecto al testigo sin tratar. Según, González (2006) en Uruguay la incidencia de *Fusarium* spp. es común y se dispone de información de eficiencia de los curasemillas comerciales para su control. En este sentido es común tratar las semillas con fungicidas previo a la siembra, para evitar problemas de damping off, siendo los principios activos más utilizados thiram y carbendazim (Impactos del...s.f.). No sucede lo mismo con *Phomopsis* spp. que normalmente ocurre en incidencias bajas (<5%) lo cual ha impedido realizar estudios de evaluación de curasemillas (González, 2006).

Scandiani y Luque (2009) observan a *Fusarium* como un patógeno de difícil control en semillas de soja, debido entre otras causas, a que es un género que presenta muchas especies, con diferente sensibilidad a los productos fungicidas y en muchos casos de crecimiento rápido. En ensayos realizados a muestras con una incidencia de *Fusarium* del 15%, se determinó un control promedio del 65% considerando diferentes tratamientos curasemillas, observándose que el micelio del hongo lograba escapar por las zonas sin cobertura del producto.

En general los bencimidazoles logran altos porcentajes de control de *Phomopsis*, *Fusarium*, *Cercospora y Colletotrichum*, pero este grupo químico presenta un alto riesgo de generar resistencia y por ello se recomienda su utilización en mezcla con otros principios activos como thiram, captan y mancozeb. El thiram, es un fungicida no sistémico y es uno de los más utilizados, ya que tiene un amplio uso para el control sobre distintos patógenos en cultivos, pero a las concentraciones con que se utiliza, puede asociarse con el surgimiento de resistencia al género *Fusarium* (Osman et al., 2012).

En el tratamiento de enfermedades causadas por *Fusarium* spp. y otros hongos, se utilizan fungicidas sistémicos como los benzimidazoles, incluyendo en este grupo principio activos como carbendazim, tiabendazol, y tiofanato (Agrios, 2005). Crovo y Clemente (2015), demostraron a nivel de laboratorio (in vitro) que la mezcla de los fungicidas carbendazim + thiram inhibió el crecimiento especies del género *Fusarium*. Según Scandiani y Luque (2009), esta es la mezcla más usada en Argentina a nivel comercial en semilla de soja, así mismo también existen otras alternativas como metil-tiofanato + thiram, ampliando un poco el espectro de acción, y también la mezcla de metil-tiofanato + piraclostrobin, pese a que Crovo y Clemente (2015), determinaron un 35% menos de eficiencia de esta última mezcla en comparación con carbendazim + thiram.

En la revisión realizada por Bradley (2008) y en estudios realizados por Broders (2008), se destaca el uso de metalaxil y mefenoxam para el control de Oomycetes, el azoxistrobin para controlar *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora* y *Pythium* spp. y el fludioxonil para control de *Rhizoctonia* y *Fusarium* spp.

Broders (2008), evaluó cuatro tratamientos diferentes para el control de *Fusarium* y el principio activo fludioxonil fue el que logro a dosis más bajas de producto, mayor inhibición en el crecimiento micelial del patógeno, pese a que se detectaron algunas mutaciones con resistencia a dicho principio activo. Así mismo, el captan proporcionó una mayor inhibición que la azoxistrobina y la trifloxistrobina, pero incluso a las dosis más altas, el control sobre el crecimiento medio del micelio fue bajo (14% del control) en comparación con el efecto logrado por el fludioxonil.

González (s.f.) en su estudio sobre efecto de curasemillas, observó que estos incrementaron el valor de germinación con respecto al testigo sin curar debido a la reducción en el número de plantas enfermas (anormales); destacándose el comportamiento del tratamiento 25 g/l de fludioxonil + 100 g/l de metalaxil en el control de *Fusarium* spp.. Scandiani y Luque (2009), destacan los buenos niveles de control de esta misma mezcla en Argentina, con aumentos en poder germinativo promedio de 80% a 83% y niveles de vigor de 76% a 86%, respecto a muestras sin tratar. Si bien presenta diversos porcentajes de control de los hongos de almacenaje y los de la semilla, dicha mezcla se destaca por su elevado control de los patógenos que habitan el suelo. Sin embargo, Crovo y Clemente (2015) mostraron una estimulación del crecimiento de las especies de *Fusarium* evaluadas para el caso del metalaxil-M.

Los nuevos fungicidas del grupo de las estrobirulinas (azoxistrobin y trifloxystrobin) son de amplio espectro, y se usan en mezcla con otros

fungicidas, como el fludioxonil, para mejorar la eficiencia del control. Siendo este un fungicida de contacto, de amplio espectro y con buen control sobre *Fusarium* (Munkvold y O'Mara, 2002), que si bien actúa en el mismo sitio especifico que las estrobirulinas, presenta diferente modo de acción (Broders, 2008).

En un experimento realizado por Ellis et al. (2011) donde se estudió, entre otras cosas, la eficacia de tratamientos fúngicos de semillas de soja para el control de *Fusarium*, se encontró que todos los fungicidas utilizados proporcionan algún nivel de protección. Los tratamientos evaluados incluían principios activos como azoxistrobina, trifloxistrobina, piraclostrobina, y fludioxonil. Este último presentó una incidencia menor de la enfermedad en las semillas tratadas, en comparación con las tratadas con azoxistrobina.

En ensayos realizados por Mantecón (2003) en INTA Balcarse, se evaluó la eficacia de 6 fungicidas curasemillas en el control de *Fusarium* spp. Vitavax Flo (20% carboxin + 20% thiram), Ritiram Carb LS (10% carbendazim + 10% thiram), Tegram Flo (8.5% tiabendazol + 35% thiram), thiram Flo (25% thiram), Maxim XL FS (2.5% fludioxonil + 1% metalaxil M) y Dividend 3FS (3% difenoconazol). En el mismo se determinó que a excepción de thiram Flo, todos los tratamientos químicos mostraron buena eficacia para el control de *Fusarium* spp. sin presentar fitotoxicidad, siendo las mayores eficiencias de control obtenidas por Ritiram Carb LS y Maxim XL 35FS 200, lo que estaría dando la pauta de que thiram como principio activo no es efectivo en el control de este patógeno, cuando no es incluido en mezcla con otros principios activos.

Munkvold y O'Mara (2002), evaluaron tres fungicidas curasemillas (captan, difenoconazol y fludioxonil) en semillas y plántulas de maíz, sobre el control de seis especies de *Fusarium*. Los tres lograron reducir la colonización de los *Fusarium*, el deterioro de la semilla y de las raíces, pero cada tratamiento tiene efecto diferente con respecto a cada aislado de *Fusarium*. Difenoconazol resultó más efectivo en la prevención de la colonización y el deterioro de la semilla, mientras que el fludioxonil aumento el largo de las raíces (Munkvold y O'Mara, 2002).

En los antecedentes planteados se dejó en evidencia la importancia del género *Fusarium* en el cultivo de soja, tanto en la implantación de las plántulas como en el desarrollo de las mismas. En los últimos años ha aumentado la incidencia de este género, debido entre otros factores a prácticas de manejo como el rastrojo en superficie, siembras tempranas y limitada rotación de cultivos. Así mismo se realizó una revisión en cuanto al control químico de *Fusarium* mediante el uso de fungicidas curasemillas, considerada a nivel mundial y regional, una de las principales y más difundidas medida de control

para este patógeno en semillas de soja. Si bien los diferentes estudios coinciden en el efecto positivo de los curasemillas para el control de *Fusarium*, existen algunas contradicciones, en cuanto a los diferentes principios activos y su eficacia de control, debido seguramente a otros factores que influyen en la respuesta como: la sanidad y calidad de la semilla, la incidencia y severidad del patógeno, la formulación del producto y la calidad del proceso de curado de la semilla.

En base a esto y con la intención de aportar más información, sobre el desarrollo de esta enfermedad en el ámbito local, el siguiente trabajo tuvo como objetivo: I) Determinar el efecto de tres especies de *Fusarium* (*F. graminearum*, *F. oxysporum* y *F. sambucinum*) en la implantación de soja, bajo condiciones controladas y II) Evaluar el efecto de diferentes tratamientos curasemilla en el control de las especies de *Fusarium* estudiadas. Las hipótesis planteadas para cada caso son: I) Al menos uno de los aislados de *Fusarium* estudiados, tiene un efecto negativo en la cantidad de plántulas de soja emergidas y II) Existe un efecto de reducción de los daños de implantación causados por las especies de *Fusarium*, al utilizar diferentes tratamientos fungicidas curasemillas.

# 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. LOCALIZACIÓN

Los experimentos se llevaron a cabo en las instalaciones de la Estación Experimental INIA La Estanzuela, ubicada en la Ruta 50 km 11, departamento de Colonia, haciendo uso del laboratorio, invernáculo y fitotrón de dicha estación. Cabe destacar que los aislados de *Fusarium* spp. utilizados como inóculo fueron obtenidos de plántulas de soja con síntomas de damping off de diferentes localidades del país en la zafra 2013-2014.

## 3.2. PERÍODO EXPERIMENTAL

Para cumplir con el objetivo planteado de determinar el efecto de las especies *F. graminearum*, *F. oxysporum* y *F. sambucinum* en la implantación de plántulas de soja, se llevaron a cabo durante el año 2015, ensayos bajo condiciones controladas de fitotrón y condiciones de invernáculo. Los mismos fueron repetidos dos veces en el tiempo (Cuadro 3). Posteriormente para evaluar el efecto de diferentes tratamientos curasemilla en el control de las especies de *Fusarium* evaluadas, se instaló un nuevo ensayo bajo condiciones de invernáculo y a diferencia de los primeros no fueron repetidos en el tiempo (Cuadro 3). Todos los ensayos constaron de la inoculación al momento de la siembra de la soja, con las cepas respectivas de *Fusarium*, crecidas sobre un sustrato.

Cuadro No. 3. Cronograma de ensayos realizados.

Procedimiento	Ensayos de patogenicidad				Ensayo curasemillas	
	Repetición 1	dps.*1	Repetición 2	dps.	Repetición 1	dps.
Siembra invernáculo	21/04/2015	-	21/08/2015		11/11/2015	
1 <sup>a</sup> . determinación	05/05/2015	14	04/09/2015	14	20/11/2015	9
2ª. determinación	12/05/2015	21	07/09/2015	17	24/11/2015	13
Siembra fitotrón	21/04/2015		21/08/2015		-	
1 <sup>a</sup> . determinación	05/05/2015	14	04/09/2015	14	-	
2ª. determinación	12/05/2015	21	07/09/2015	17	-	

<sup>\*1</sup> dps.: días post siembra

## 3.3. ESPECIES DEL GÉNERO FUSARIUM UTILIZADAS

El aislamiento de las cepas de *Fusarium* fue realizado por Lic. PhD. Silvina Stewart, obtenidos de plántulas de soja con síntomas de damping off provenientes de distintas localidades de Uruguay en la zafra 2013-2014 (Cuadro 4). Luego del aislamiento, las cepas fueron purificadas (cultivos monospóricos), y almacenadas en silica gel en heladera. La identificación de las especies fue realizada por la Ing.Agr. MSc., PhD. Silvia Pereyra, por morfología clásica.

Cuadro No. 4. Listado de cepas de *Fusarium* utilizadas, según localización, cultivar y estado fenológico de las plántulas de las que fueron obtenidas.

No.	Tratamiento	Especie Depto.		Cultivar	Estado fenológico
1	TO1	F. oxysporum	Durazno	NA 6126	V1
2	TO2	F. oxysporum	Soriano	DM 5.9	V1
3	TO3	F.oxysporum	Soriano	DM 5351	V1
4	TO4	F.oxysporum	Soriano	DM 7.0	V1
5	TO5	F. oxysporum	Paysandú	NS 6002	V1
6	TO6	F. oxysporum	Colonia	DM 6.8	V2
7	TS1	F. sambucinum	S/D*	S/D	V1
8	TG1	F. graminearum	Colonia	S/D	V1
9	TG2	F. graminearumm	Soriano	DM 5351	V1
10	TG3	F. graminearum	Soriano	DM 7.0	V1
11	TG4	F. graminearum	Río Negro	DM 5.9	V1
12	TG5	F. graminearum	Paysandú	NS 6002	V1
13	TG6	F. graminearum	Colonia	DM 7.0	V3

<sup>\*</sup>S/D sin dato

Las cepas de *Fusarium* fueron repicadas en placas de Petri conteniendo el medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) (200 g de papa, 10 g de dextrosa, 20 g de Agar OXOID en 1 L de agua destilada). Las placas de PDA fueron incubadas durante 7-10 días a una temperatura de 20°C con ciclos de luz/oscuridad de 12/12 horas.

#### 3.4. INÓCULO DE *FUSARIUM*

El sustrato utilizado como vehículo para el inóculo de *Fusarium* fue una mezcla de harina de maíz Prodal© (190 cc), arena (950 cc) y agua (155 cc). La

mezcla fue colocada en bolsas de autoclave y esterilizadas en autoclave a 121°C, por 20 minutos, dos veces con 24 horas entre ellas. Cada bolsa con sustrato fue inoculada con una placa de PDA conteniendo uno de los aislados mencionados en el ítem anterior. El procedimiento fue realizado en cámara de flujo laminar con bisturí flameado.

Las bolsas inoculadas fueron incubadas a 20°C +/- 2 en ausencia de luz por un período de entre 15 a 20 días, hasta el momento de la siembra de los ensayos.

#### 3.5. EXPERIMENTOS

#### 3.5.1. Pruebas de patogenicidad

## 3.5.1.1. Diseño experimental

Para los experimentos de patogenicidad se utilizó un diseño experimental completamente al azar, incluyendo 15 tratamientos con ocho repeticiones para cada uno de los ambientes a evaluar (fitotrón e invernáculo). Los mismos correspondieron a seis aislados de *F. oxysporum* (TO1-TO6), seis de *F. graminearum* (TG1-TG6) y uno de *F. sambucinum* (TS1) (Cuadro 4) y dos testigos sin inóculo (TT1 con sustrato sin inocular y TT2 sin sustrato ni inóculo).

Los ambientes considerados se diferencian por las condiciones de temperatura. En fitotrón las condiciones fueron de 25°C +/-2 y 16 hs. de luz, y en el invernáculo las temperaturas variaron entre 18 y 30 °C y la luz se suplementó para llegar a las 16 hs. El riego se realizó a demanda en cada ambiente.

La unidad experimental consistió en una maceta con 10 semillas de soja de la variedad LEO 1706. Se utilizaron macetas de plástico de 785 cc, conteniendo una mezcla compuesta por tierra, vermiculita y arena en proporción de 4:1:1 volumen a volumen. A cada maceta se le proporcionó una misma cantidad de mezcla utilizando una tara, siendo un total de 120 macetas por ambiente y por fecha de siembra.

Cada maceta fue inoculada con 20 cc de sustrato con su respectiva cepa de *Fusarium* y 20 cc de sustrato sin inóculo al testigo al momento de la siembra. El sustrato se dispersó homogéneamente sobre la mezcla de tierra y por encima de la semilla. Las semillas fueron cubiertas con la mezcla de tierra, arena y vermiculita previamente descripta, utilizando otra tara para tapar.

## 3.5.1.2. Determinaciones y análisis estadístico

Se evaluó el número de plántulas emergidas a los 14 días post siembra (dps.) y a los 21 dps. para la primera repetición y a los 14 dps. y 17 dps. para la segunda repetición. También se determinó el estado fenológico y detalles morfológicos del desarrollo de las plántulas.

Para el análisis de varianza se utilizó PROC ANOVA mediante el uso del programa SAS (versión 9.4 SAS Institute). La variable analizada fue plántulas emergidas. Se utilizó Tukey al 5 % para la comparación de medias, cuando se detectaron diferencias significativas entre tratamientos.

## 3.5.2. Efectividad de los curasemillas

#### 3.5.2.1. Diseño experimental

Para el ensayo de efectividad de curasemillas se seleccionaron dentro de cada especie de *Fusarium* los aislados más agresivos, valorados en el ensayo de patogenicidad y se procedió a verificar la eficiencia de control de los productos fungicidas. Para esto se utilizó un diseño experimental completamente al azar. Los tratamientos incluyeron 10 productos curasemillas, un testigo sin curar y un testigo sin curar y sin inocular. Cada tratamiento constó de ocho repeticiones con 10 semillas de soja de la variedad DM 5.9 curada y sin curar en el caso de los testigos, siendo la unidad experimental una maceta con 10 semillas (Cuadro 5).

La semilla de la variedad DM 5.9, con 93% de germinación, se curó utilizando un caldo con la concentración adecuada de producto comercial para la dosis estipulada (Cuadro 5). Para esto se colocó en una bolsa el caldo junto con la semilla (500g), agitando hasta lograr un correcto mojado de la misma y se dejó secar previo a la siembra. La inoculación y la siembra fueron realizadas utilizando la misma metodología que para los experimentos de patogenicidad.

Cuadro No. 5. Listado de tratamientos utilizados, diferenciados por principio activo y concentración, indicando nombre comercial y dosis aplicada.

	Tratamientos (g/l)	Nombre comercial	Dosis (*)
T1	Testigo	-	-
T2	carbendazim 125 + thiram 250 + metalaxil 50	zentro	250
Т3	fludioxinil 25 + thiabendazol 150 + metalaxil-m 20 fs	trilogy	100

T4	carbendazim 250 + thiram 100 + metalaxil 50	envión+	250
T5	metalaxil 60 + metil tiofanato 250	envión soja	200
T6	carbendazim 250 + thiram 250	envión ct 25/25	200
T7	metalaxil 50 + carbendazim 250 + azoxistrobin 10	vitacura	250
T8	metil tiofanato 450 + piraclostrobina 50	acronis	100
Т9	metil tiofanato 450 + piraclostrobina 50 + bioestimulante	acronis + robust	100 + 9
T10	fludioxonil 25 + metalaxil-m 20 + thiabendazol 150	apron maxx advance	100
T11	fludioxonil 25 + metalaxil 225 + thiabendazol 150	fludiox tbz	100
T12	Testigo sin curasemillas y sin inóculo	-	-

(\*) Dosis: cc producto comercial /100 kg. semilla

#### 3.5.2.2. Determinaciones y análisis estadístico

Se realizaron dos determinaciones de emergencia, una a los nueve dps. y otra a los 13 dps. Estas se asocian a los estados fenológicos de V1 y V2 respectivamente. Se registraron cantidades de plantas sanas, atrasadas (más pequeñas), anormales y muertas. Posteriormente se determinó el peso seco de la parte aérea total de cada maceta, mediante el secado de la muestra en estufa a 50-70 °C durante 24 h y pesada con balanza de precisión de 0,001g.

Para determinar la eficiencia de los curasemillas se decidió realizar un índice llamado plantas emergidas vivas (EV), aplicando un factor de corrección de 0,5, que pondera la cantidad de plantas atrasadas y de plantas anormales. De esta manera se unifica en una sola variable la situación de toda la maceta. Se considera que estas categorías de plántulas (atrasadas o anormales) son de menor vigor y tamaño que las normales, y que si bien emergieron no se las puede considerar como sanas, pues seguramente en condiciones de campo éstas no hubiesen prosperado. EV = P sanas + 0,5 P atrasadas + 0,5 P anormales.

Por otra parte al tratarse de un índice, conformado por variables de tipo discreta, expresada como la proporción de un total y que siguen una distribución binomial, se transformó mediante el arcoseno de la raíz cuadrada a la variable EV y se llamó plantas emergidas viva transformadas (EVt).

Para evaluar la efectividad entre curasemillas se calculó el incremento porcentual en el número de plantas emergidas respecto al testigo sin curar.

Para esto se aplicó una fórmula llamada delta emergencia.  $\Delta E$  (%) = [(EV Tratamiento - EV Testigo) / EV Testigo] x 100.

Para el análisis de varianza se utilizó PROC GLM mediante el uso del programa SAS (versión 9.4 SAS Institute). Las variables analizadas fueron plantas emergidas vivas (EV), plantas emergidas vivas transformado (EVt) y cantidad de materia seca total (MS). Se utilizó LSD Fisher al 5 % para la comparación de medias, cuando se detectaron diferencias significativas entre tratamientos.

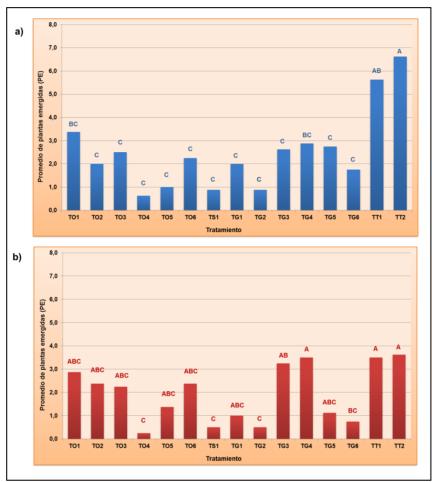
#### 4. RESULTADOS

#### 4.1. RESULTADOS DE PATOGENICIDAD

## 4.1.1. <u>Efecto de los tratamientos según el ambiente evaluado y el momento</u> de medición

Para la totalidad de los ensayos, el testigo TT2 (sin sustrato ni inóculo) fue utilizado a los efectos de determinar emergencia del lote, el TT1 (con sustrato y sin inóculo) se utilizó para determinar si el sustrato podía llegar a tener un efecto sobre la emergencia de las plántulas de soja, en todos los casos los testigos TT1 y TT2 no difirieron estadísticamente entre sí.

En la siembra de mayo en fitotrón, los tratamientos testigos sin inocular obtuvieron mayor número de plantas emergidas respecto a todos los tratamientos inoculados con *Fusarium*, a excepción del TO1 y TG4. No obstante, al analizar la misma fecha pero en invernáculo, solamente cuatro (TO4, TS1, TG2, TG6) de los 13 tratamientos presentaron un número de plantas emergidas significativamente menor que los testigos sin inocular (Figura 1).

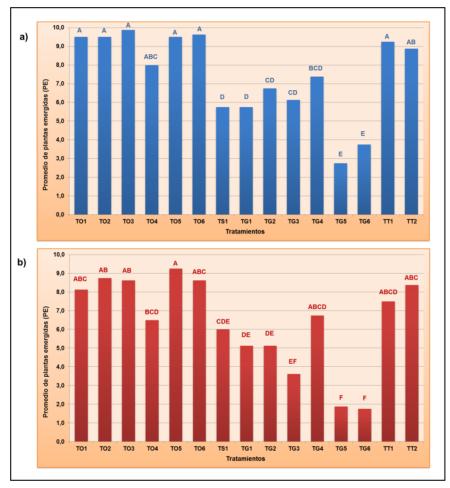


Letras diferentes indican diferencias significativas al 5% según prueba de Tukey ( $\alpha$ =0,05).

Figura No. 1. Promedio de plántulas de soja emergidas para cada ambiente evaluado: fitotrón (a) e invernáculo (b), según tratamiento, a los 21 días post-siembra para mayo.

En la siembra de setiembre se observa, en general, un mayor número de plántulas emergidas, en comparación con la fecha de siembra de mayo (Figura 2). Para esta fecha de siembra en el fitotrón, se observó que todas las cepas de la especie *F. oxysporum*, no presentaron diferencias significativas respecto a los testigos sin tratar. Por el contrario, el tratamiento correspondiente a *F. sambucinum* y los tratamientos pertenecientes a la especie *F. graminearum*, presentaron un menor número de plántulas emergidas, observándose diferencias significativas en relación a los testigos, destacándose como más agresivos los aislados TG5 y TG6.

Al analizar la siembra de setiembre, en invernáculo, tres aislados de *F. graminearum;* TG3, TG5 y TG6, difirieron estadísticamente de los testigos. Dos de ellos (TG5 y TG6) coinciden con los destacados como más agresivos en el fitotrón.



Letras diferentes indican diferencias significativas al 5% según prueba de Tukey ( $\alpha$ =0.05).

Figura No. 2. Promedio de plántulas de soja emergidas para cada ambiente evaluado: fitotrón (a) e invernáculo (b), según tratamiento, a los 17 días post-siembra para setiembre.

# 4.1.2. <u>Efecto de los tratamientos (análisis conjunto de ambos experimentos)</u>

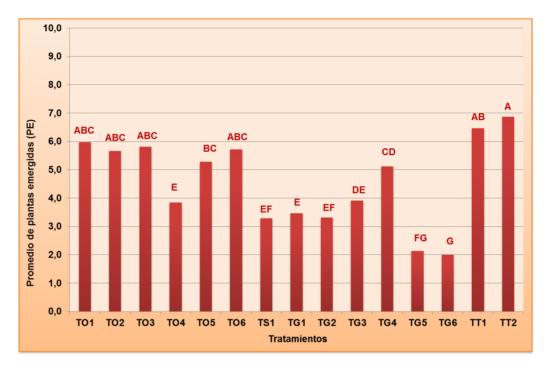
El ANOVA conjunto realizado para ambos ambientes (fitotrón e invernáculo) y en ambas fechas de siembra (mayo y setiembre) reveló que existen diferencias significativas para: tratamiento, ambiente y fecha con un

nivel de significancia  $\alpha$ =0,05. Sin embargo para la interacción entre los factores antes mencionados, no se observaron diferencias significativas, pudiendo así visualizar con mayor claridad la diferencia entre los tratamientos (Anexo II).

En primer lugar se observó que existen diferencias significativas en cuanto al promedio de plantas emergidas, tanto entre las diferentes especies de *Fusarium* como entre los diferentes aislados de una misma especie. En general se observó una mayor agresividad de *F. graminearum* y *F. sambucinum* respecto a *F. oxysporum*.

Para *F. sambucinum* el tratamiento evaluado (TS1), presento diferencias significativas respecto a los testigos sin tratar. Para *F. oxysporum*, el TO4 fue el único aislado de la especie que presento un número de plantas emergidas significativamente menor a los testigos. En el caso de *F. graminearum* los tratamientos TG5 y TG6 fueron los que presentaron menor número de plantas emergidas, con diferencias significativas respecto a los testigos sin tratar y a los restantes tratamiento evaluados (Figura 3).

El aislado TO4 se comportó de manera similar a los aislados TG1, TG2 y TG3 de *F. graminearum* y al *F. sambucinum* (TS1), presentado un menor número de plantas emergidas respecto a los restantes tratamientos de *F. oxysporum* y a los testigos sin tratar.



Letras diferentes indican diferencias significativas al 5% según prueba de Tukey ( $\alpha$ =0,05).

Figura No. 3. Promedio de plantas de soja emergidas según tratamiento evaluado, análisis conjunto de momento de siembra y ambiente.

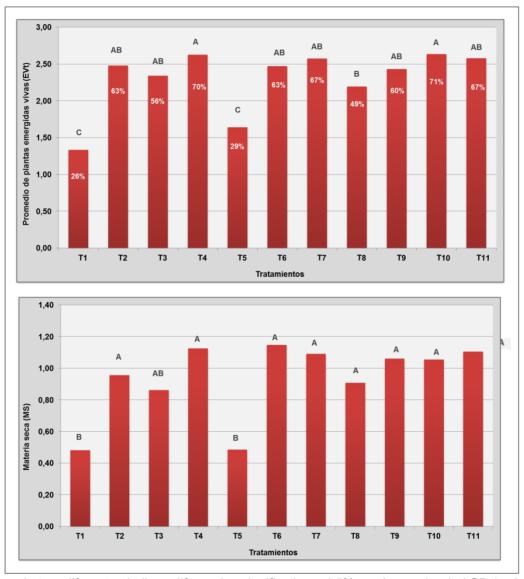
#### 4.2. RESULTADOS DE EFICIENCIA DE CONTROL DE CURASEMILLAS

A partir del análisis del modelo lineal generalizado (GLM) realizado, se determinó que existen diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, tanto para la variable plantas emergidas vivas transformado (EVt) como para materia seca total (MS), presentando un p-valor menor a  $\alpha$ =0,05 (Anexo III). Para el análisis de los datos se decidió no tener en cuenta el tratamiento testigo T12 (sin curar y sin inóculo).

Al evaluar los diferentes tratamientos curasemillas, en cuanto a la proporción de plantas emergidas vivas (EV), valor transformado (EVt) y delta emergencia ( $\Delta$ E), se observó que la mayoría fueron efectivos en el control de *Fusarium*, presentando diferencias significativas en el total de plantas emergidas respecto al testigo sin tratar, a excepción de T5 (metalaxil 60 + metil tiofanato 250) que no fue efectivo en el control de *F. oxysporum* ni el *F. sambucinum*.

Para la especie *F. oxysporum*, se observó que el único tratamiento curasemilla que no presentó diferencias significativas, en el número de plantas

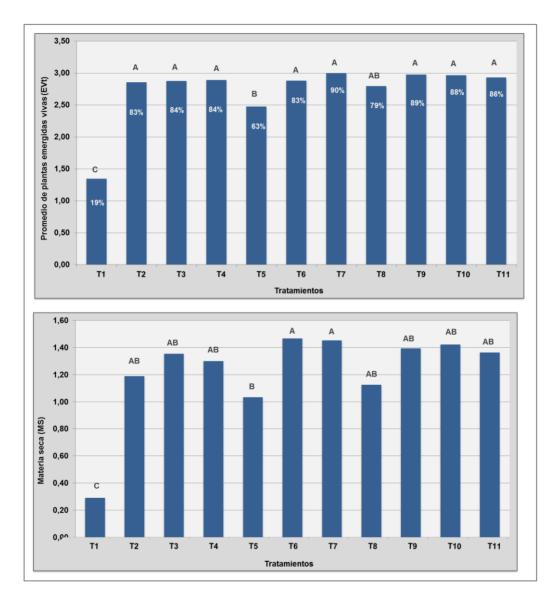
emergidas vivas, respecto al testigo fue T5, mientras que los restantes nueve presentaron mayor número de plantas emergidas vivas. Para esta misma especie, se observó que no hubo diferencias significativas en materia seca para los tratamientos T3 y T5, con respecto al testigo sin tratar (Figura 4).



Letras diferentes indican diferencias significativas al 5% según prueba de LSD ( $\alpha$ =0,05). En el interior de las barras se muestra el porcentaje de EV valores sin transformar para cada tratamiento.

Figura No. 4. Promedio de plantas emergidas vivas (EVt) y materia seca (MS) según tratamiento curasemilla, inoculadas con *Fusarium oxysporum*.

Se observó que para *F. graminearum* todos los tratamientos curasemilla presentaron diferencias significativas respecto al control, en el número de plantas emergidas. A su vez el T5 (metalaxil 60 + metil tiofanato 250) presentó menor eficiencia en el control de esta especie que el resto de los tratamientos, a excepción de T8 (metil tiofanato 450 + piraclostrobina 50), con el cual no presento diferencias significativas. Así mismo todos los tratamientos obtuvieron más materia seca total de plántulas respecto al testigo sin tratar, evidenciando que hubo un mayor crecimiento de las plantas al aplicar los diferentes fungicidas curasemillas (Figura 5).

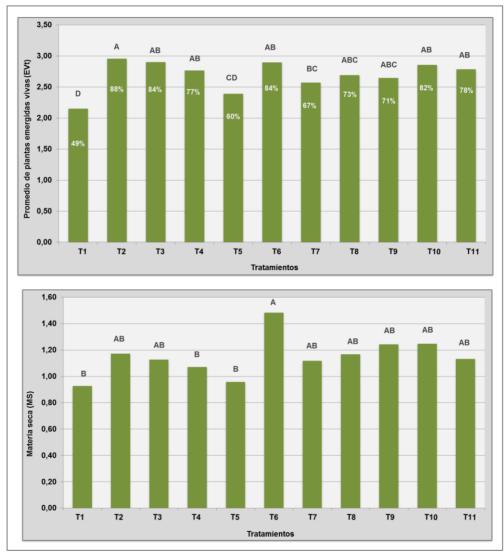


Letras diferentes indican diferencias significativas al 5% según prueba de LSD ( $\alpha$ =0,05). En el interior de las barras se muestra el porcentaje de EV valores sin transformar para cada tratamiento.

Figura No. 5. Promedio de plantas emergidas vivas (EVt) y materia seca (MS) según tratamiento curasemilla, inoculadas con *Fusarium graminearum*.

Con respecto a *F. sambucinum*, también se determinó mayor número de plantas emergidas vivas para la mayoría de los tratamientos si se los compara con el testigo. El tratamiento T5, fue el único que no presentó diferencia

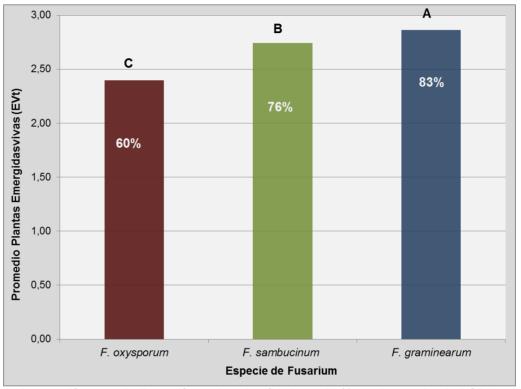
significativa con respecto al testigo sin tratar, por otro lado los tratamientos T7, T8 y T9 no presentaron diferencias con respecto al T5. En cuanto a la materia seca solo T6 presento niveles significativamente mayores respecto al testigo. El crecimiento de las plántulas fue mayor en T6 respecto al testigo, y a T4 y T5 (Figura 6).



Letras diferentes indican diferencias significativas al 5% según prueba de LSD ( $\alpha$ =0.05). En el interior de las barras se muestra el porcentaje de EV valores sin transformar para cada tratamiento.

Figura No. 6. Promedio de plantas emergidas vivas (EVt) y materia seca (MS) según tratamiento curasemilla, inoculadas con *Fusarium sambucinum*.

Al analizar la emergencia de plantas para el promedio de todos los tratamientos con fungicidas sin considerar el testigo, se observó que la emergencia fue significativamente menor para *F. oxysporum*, en comparación con *F. sambucinum* y *F. graminearum*, los cuales también fueron estadísticamente diferentes entre ellos (Figura 7).



Letras diferentes indican diferencias significativas al 5% según prueba de LSD ( $\alpha$ =0,05). En el interior de las barras se muestra el porcentaje de EV sin transformar para cada tratamiento.

Figura No. 7. Promedio de plantas emergidas vivas valor transformado, para el promedio de tratamientos curasemillas, sin considerar testigos, según especie de *Fusarium*.

La respuesta al tratamiento en cuanto a plantas emergidas ( $\Delta E$ ), obtenida para el promedio de las tres especies de *Fusarium*, fue de 172%. Para *F. graminearum* el promedio fue 327%, con un rango de 226 a 365%, para *F. oxysporum* el promedio fue 132%, variando entre 15 y 178%, mientras que para *F. sambucinum* los valores variaron entre 23 a 79%, siendo el promedio de 57% (Cuadro 6).

Cuadro No. 6. Promedio de plantas emergidas vivas y delta emergencia según tratamiento curasemilla y especie de *Fusarium*.

Trotomionto	F. gra	minearum	F. oxy	/sporum	F. sambucinum		Promedio
Tratamiento	EV*1	ΔE (%)*2	EV	ΔE (%)	EV	ΔE (%)	ΔE (%)
T1	1,94	-	2,56	-	4,88	-	-
T2	8,25	326	6,25	144	8,75	79	183
Т3	8,38	332	5,63	120	8,44	73	175
T4	8,38	332	7,00	173	7,69	58	188
T5	6,31	226	2,94	15	6,00	23	88
Т6	8,31	329	6,25	144	8,44	73	182
T7	9,00	365	6,69	161	6,69	37	188
Т8	7,88	306	4,94	93	7,31	50	150
Т9	8,88	358	6,00	134	7,06	45	179
T10	8,81	355	7,13	178	8,19	68	200
T11	8,63	345	6,69	161	7,81	60	189
Promedio	8,28	327	5,95	132	7,64	57	172
Rango ∆E (%)	-	226 a 365	-	15 a 178	-	23 a 79	88 a 200

<sup>\*1</sup> Emergidas vivas sin transformar. EV = P sanas + 0.5 P atrasadas + 0.5 P anormales

Al analizar la variación porcentual de plantas emergidas de cada tratamiento para el promedio de las tres especies de *Fusarium*, deja en evidencia que el T5 fue el tratamiento que presento los menores niveles de control del patógeno, con niveles del 88%, en comparación con los restantes tratamientos, los cuales obtuvieron variaciones en el entorno de 150 a 200% (Cuadro 7).

 $<sup>^{*2}</sup>$  Delta Emergencia.  $\Delta$ E (%) = [(EV Tratamiento- EV Testigo) / EV testigo] x 100

Cuadro No. 7. Promedio de plantas emergidas vivas, emergidas vivas transformado y delta emergencia según tratamiento curasemilla, para el promedio del comportamiento frente a las tres especies de Fusarium.

	Tratamientos (g/l)	ΕV	⁄t	EV	ΔE(%)
10	fludioxinil 25 + metalaxil-m 20 + tiabendazole 150	2,82	Α	8,04	200
11	fludioxinil 25 + metalaxil 225 + tiabendazole 150	2,76	Α	7,71	189
2	carbendazim 125 + thiram 250 + metalaxil 50	2,76	Α	7,75	183
4	carbendazim 250 + thiram 100 + metalaxil 50	2,76	Α	7,69	188
6	carbendazim 250 + thiram 250	2,75	Α	7,67	182
7	metalaxil 50 + carbendazim 250 + azoxystrobin 10 flufioxonil 25 + thiabendazole 150 + metalaxil-m 20	2,71	AB	7,46	188
	fs	2,71	AB	7,48	175
9	metil tiofanato 450 + piraclostrobina 50 +				
	bioestimulante	2,68	AB	7,31	179
8	metil tiofanato 450 + piraclostrobina 50	2,56	В	6,71	150
5	metalaxil 60 + metil tiofanato 250	2,17	С	5,08	88

 $<sup>^{*1}</sup>$  Emergidas vivas valor transformado. Arcoseno de raíz cuadrada de EV  $^{*2}$  Emergidas vivas sin transformar. EV = P sanas + 0.5 P atrasadas + 0.5 P anormales  $^{*3}$  Delta Emergencia.  $\Delta$  (%) = [(EV Tratamiento - EV Testigo) / EV testigo] x 100

### 5. DISCUSIÓN

Se pudo determinar que existe un efecto negativo en la implantación de plantas de soja causada por las especies de *Fusarium* estudiadas, siendo este efecto diferente según la especie y según la cepa dentro de cada especie.

Fusarium oxysporum resultó ser la especie menos agresiva en comparación con *F. sambucinum y F. graminearu*m, ya que solo una de sus cepas tuvo efecto en la emergencia de plántulas de soja. Los restantes aislados no fueron agresivos, no presentando diferencias significativas entre ellos, siendo ésta, la especie con menos variabilidad entre sus cepas. Mientras que la variabilidad intra especie para *F. graminearum* fue mayor, con diferentes niveles de agresividad entre las cepas estudiadas, siendo todas patogénicas, al igual que la cepa de *F. sambucinum*. Cabe aclarar que para esta última especie se incluyó una sola cepa, lo que impidió determinar la variabilidad intraespecie.

Coincidiendo con los resultados obtenidos, Farías y Griffin (1990), Fravel et al. (2003), Díaz et al. (2013), Ellis et al. (2014), afirman que algunas cepas del *F. oxysporum* pueden actuar como patógeno o no. Mientras que en los estudios realizados por Killebrew et al. (1993), Broders et al. (2007), ningún aislado de *F. oxysporum* resulto patogénico.

En un estudio realizado por Barros et al. (2014) se demuestra que las cepas de *F. graminearum* causan damping off en soja. Así mismo, en los ensayos de patogenicidad realizados por Broders et al. (2007) se determinó que todos los aislados de *F. graminearum* tuvieron niveles de agresividad de media a alta. Al igual que en el presente ensayo, donde todas las cepas estudiadas para esta especie generaron damping off con diferencias de agresividad.

Sin embargo, y de forma contradictoria a los resultados obtenidos en el presente estudio, Yasem de Romero et al. (2000), en su ensayo determinaron que *F. graminearum* fue la especie menos patogénica y *F. oxysporum* la de mayor patogenicidad de las especies estudiadas.

En cuanto a la evaluación de los diferentes fungicidas curasemillas, se determinó que la mayoría de los tratamientos evaluados presentaron respuesta positiva en el número de plántulas emergidas en presencia de las diferentes especies de *Fusarium*. Verificándose un delta emergencia mayor para *F. graminearum*, especie para la cual los tratamientos fueron más eficientes, seguido por *F. oxysporum* y por último *F. sambucinum*. Esto coincide con lo estudiado por González (s.f.), Mantecón (2003), Bradley (2008), los cuales concluyeron que todos los tratamientos fungicidas en semilla de soja fueron efectivos en el control de *Fusarium* spp.

En términos generales los tratamientos que contienen metil tiofanato obtuvieron los menores niveles de control, lo que indicaría que este principio activo no es efectivo para el control de *Fusarium* en la implantación de soja. Por otro lado, se obtuvieron mejores resultados al realizar la mezcla de dicho principio activo con piraclostrobina en comparación con metalaxil. Así mismo el agregado de un bioestimulante en esta mezcla no presentó diferencias significativas en la emergencia de plántulas. Coincidentemente la bibliografía asocia al metalaxil, más al control de Oomycetes que a hongos en general (Munkvold y O'Mara 2002, Bradley 2008, Broders 2008, Crovo y Clemente 2015).

Impactos del...(s.f.), destaca a thiram y carbendazim (similar a T6) como los más utilizados en Uruguay para el control de damping off, seguramente por su efectividad en el control de *Fusarium* como lo muestra el presente ensayo. A su vez González (s.f.) destaca como efectivo en el control de *Fusarium* al fludioxonil + metalaxil, coincidiendo con los resultados del presente trabajo, aunque variando la efectividad según las dosis utilizadas.

Los resultados del ensayo demuestran que las mezclas de bencimidazoles (tiabendazole y carbendazim) de tipo sistémico, con fungicidas de contacto como el fludioxonil (fenil pirrol), o el thiram (ditiocarbamato), son más efectivas en el control de *Fusarium* (variaciones en emergencia superiores a 180%) que las mezclas con otros fungicidas sistémicos como las estrobirulinas (azoxistrobin y piraclostrobina), coincidiendo con Crovo y Clemente (2015) que evaluaron la mezcla de carbendazim + thiram como más eficiente respecto a otras mezclas y con Ellis et al. (2011) que obtuvieron menor incidencia del patógeno en las semillas tratadas con fludioxinil, en comparación con las tratadas con estrobirulinas.

En base a este estudio se puede concluir que el uso de fungicidas curasemillas tiene un efecto positivo en el control de damping off provocado por especies de *Fusarium* en plántulas de soja, lográndose una respuesta en promedio en la emergencia de entre 150 y 200%. La combinación de principios activos de tipo sistémico y de contacto resultó ser eficaz en el control del patógeno.

Mediante este estudio se pretendió aportar información sobre una temática que cada vez es más importante a nivel de la producción de soja en el país. Si bien como antecedente existen trabajos a nivel internacional y regional, han sido pocos los realizados a nivel nacional y es por esto que será necesario que se siga trabajando e investigando en esta problemática bajo las condiciones preponderantes del Uruguay.

#### 6. CONCLUSIONES

Las tres especies de *Fusarium* estudiadas tuvieron un impacto variable en la emergencia de soja. Al menos un aislado de cada especie afectó significativamente el número de plántulas emergidas. *Fusarium oxysporum* fue la especie que presentó menor efecto en el número de plántulas de soja emergidas, siendo la mayoría de los aislados menos agresivos que los representantes de las otras dos especies estudiadas. Por el contrario, *F. graminearum* fue la especie más agresiva, destacándose los aislados TG5 y TG6 con el menor número de plántulas emergidas.

Con respecto a la efectividad de los curasemillas, todos los tratamientos analizados fueron efectivos en el control de las especies de *Fusarium*, a excepción de la mezcla de metalaxil y metil tiofanato (T5) que no fue efectiva en el control de *F. oxysporum* ni el *F. sambucinum*, sin presentar diferencias significativas en el número plantas emergidas vivas respecto al testigo sin tratar. En general, los mejores controles se obtuvieron sobre *F. graminearum*, seguido por *F. oxysporum* y por último *F. sambucinum*. La variación en emergencia varío entre un 15 a 365 %, siendo un promedio de 57% para el *F. sambucinum*, 132% para *F. oxysporum* y 327% para *F. graminearum*.

En general las mezclas de bencimidazoles (tiabendazol, carbendazim y metil tiofanato) de tipo sistémico, con fungicidas de contacto como el fludioxonil (fenil pirrol), o el thiram (ditiocarbamato), son más efectivas en el control de *Fusarium* respecto a las mezclas con estrobirulinas (azoxistrobin y piraclostrobina), las cuales presentan menor eficiencia en el control de este patógeno.

#### 7. RESUMEN

Durante el año 2015, se llevaron a cabo experimentos en las instalaciones de la Estación Experimental INIA La Estanzuela, con el objetivo de determinar el efecto de diferentes especies de Fusarium en la implantación de plantas de soja y el efecto de diferentes curasemillas en el control de dichos patógenos. Para los ensayos de patogenicidad se utilizó un diseño experimental completamente al azar, incluyendo 15 tratamientos; 6 inoculados con diferentes aislados de Fusarium oxysporum, 6 de F. graminearum, 1 de F. sambucinum y 2 testigos sin tratar, en dos ambientes diferentes: fitotrón a 25°C +/-2 v 16 hs. de luz e invernáculo con temperatura variable entre 18 y 30 °C y luz de forma suplementada durante 16 hs. Se evaluó el número de plántulas emergidas 14 v a los 21 días post siembra (dps.). Al menos una cepa de cada especie afectó significativamente el número de plántulas emergidas. El F. oxysporum fue la especie que resultó menos patogénica, siendo la mayoría de los aislados menos agresivos que los representantes de las otras dos especies estudiadas. Por el contrario, F. graminearum fue la especie más patogénica, destacándose los aislados TG5 y TG6 como los más agresivos. Por otra parte se evaluó el efecto de 10 productos curasemillas para el control de un representante de cada especie de Fusarium. Se evaluó emergencia en base a un índice de plantas emergidas vivas (EV= P sanas + 0.5 P atrasadas + 0.5 P anormales) y se determinó el peso seco de la parte aérea de cada tratamiento. Todos los curasemillas estudiados fueron efectivos en el control de las tres especies de Fusarium, a excepción del T5 (metalaxil 60 + metil tiofanato 250) que no fue efectivo en el control de F. oxysporum ni de F. sambucinum. Los mejores controles fueron obtenidos sobre F. graminearum (327% delta plántulas emergidas), seguido por *F. oxysporum* (132%) *F.* y por último *F. sambucinum* (57%). En general las mezclas de bencimidazoles (tiabendazole y carbendazim) de tipo sistémico, con fungicidas de contacto como el fludioxonil (fenil pirrol) o el thiram (ditiocarbamato), fueron más efectivos en el control de Fusarium. Mientras que las mezclas con estrobirulinas (azoxystrobin y piraclostrobina) presentan menor eficiencia en el control de estos patógenos.

Palabras clave: Glycine max; Soja; Fusarium spp.; Damping off; Curasemilla.

#### 8. SUMMARY

During 2015, experiments were carried out in the facilities of the INIA La Estanzuela Experimental Station, to determine the effect of different Fusarium species in soybean implantation and the effect of different seed treatments to control these pathogens. For the pathogenicity tests, a completely randomized experimental design was used, including 15 treatments; 6 inoculated with different isolates of F. oxysporum, 6 of F. graminearum, 1 of F. sambucinum and 2 untreated controls, in two different environments: growth chamber, with controlled conditions at 25 ° C +/- 2 and 16 hs. of light and greenhouse with variable temperature between 18 and 30 ° C and light supplemented for 16 hours. The number of seedlings emerged 14 and 21 days after sowing (dps.) was evaluated. In general terms, Fusarium oxysporum was the weakest pathogen, whereas F. sambucinum and F. graminearum had greater effect in the emergence of soybean seedlings, being two isolates of the latter the most aggressive. On the other hand, the effect of the 10 seed dressing products were evaluated for one isolate of each specie of *Fusarium*. Emergence was evaluated based on an index of live emerged plants (EV = healthy P + 0.5 P retarded + 0.5 P abnormal) and the dry weight of the aerial part of each treatment was determined. All the treatments analyzed were effective in the control of all Fusarium species, with the exception of T5 (Metalaxyl 60 + Methyl Thiophanate 250) that was not effective in controlling F. oxysporum or F. sambucinum. The best response to the fungicide were obtained on F. graminearum (327% delta emerged seedlings), followed by F. oxysporum (132%) and finally F. sambucinum (57%). In general, mixtures of systemic benzimidazoles (thiabendazole and carbendazim), with contact fungicides such as fludioxonil (phenyl pyrrole), or thiram (dithiocarbamate), were more effective in controlling Fusarium. While mixtures with strobirulins (azoxystrobin and pyraclostrobin) had lower efficiencies in the control of these pathogens.

Keywords: *Glycine max*; Soybean; *Fusarium* spp.; Damping off; Seed treatments.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- 1. Agrios, G. 2005. Plant Pathology. 5<sup>th</sup>. ed. New York, Elsevier. 922 p.
- 2. Aoki, T.; O'donnell, K.; Homma, Y.; Lattanzi, A. R. 2003. Sudden death syndrome of soybean is caused by two morphologically and phylogenetically distinct species within the *Fusarium solani* species complex-*F. virguliforme* in North America and *F. tucumaniae* in South America. Mycologia. 95(4): 660-684.

- 5. Arbeletche, P.; Carballo, C. 2008. La expansión agrícola en Uruguay: algunas de sus principales consecuencias. Revista de Desarrollo Rural y Cooperativismo Agrario. 12: 7-20.
- Barcenas, C. 2005. Química y ecotoxicología de los fungicidas. <u>In:</u> Botello,
   A. V.; Rendón von Osten, J.; Gold-Bouchot, G.; Agraz-Hernández,
   C. eds. Golfo de México, contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias. Campeche, EPOMEX. pp.191-198.
- 7. Barros, G.; Zanon, M. S. A.; Chiotta, M. L.; Reynoso, M. M.; Scandiani, M. M.; Chulze, S. N. 2014. Pathogenicity of phylogenetic species in the *Fusarium graminearum* complex on soybean seedlings in Argentina. European Journal of Plant Pathology. 138(2): 215-222.
- 8. Blum, A.; Narbondo, I.; Oyhantcabal, G. 2008. ¿Dónde nos lleva el camino de la soja? Sojización a la uruguaya: principales impactos socioambientales. Montevideo, RAP-AL. 42 p.
- 9. Bradley, C. A. 2008. Effect of fungicide seed treatments on stand establishment, seedling disease, and yield of soybean in North Dakota. Plant Disease. 92(1): 120-125.

- 10. Broders, K. D.; Lipps, P. E.; Paul, P. A.; Dorrance, A. E. 2007. Evaluation of *Fusarium graminearum* associated with corn and soybean seed and seedling disease in Ohio. Plant Disease. 91(9): 1155-1160.
- 11. \_\_\_\_\_\_. 2008. Seed and seedling disease of corn and soybean in Ohio: the role of *Fusarium graminearum*, *Pythium* species diversity, fungicide sensitivity, *Pythium* community composition, and soil properties in disease severity. PhD. Thesis. Columbus, United States. Ohio State University. Departament of Plant Pathology. 187 p.
- 12. Casini, C.; Craviotto, R. M.; Grancola, S. M. 1997. Calidad de la semilla.

  In: Giorda, L. M.; Baigorri, H. E.; Doucet, M. E.; Viale, J. A.; Forjan, H.; Iriarte, L.; Tommaso, J. C. eds. El cultivo de soja en la Argentina. Córdoba, INTA. pp. 89-102.
- 13. Celetti, M. J.; Johnson, H.; Platt, H. W. 1990. A note on the incidence of soilborne fungi in six crops used in rotation with potatoes. Phytoprotection. 71(2): 97-100.
- 14. Chiotta, M. L.; Chulze, S.; Barros, G. 2015. Fuentes de inóculo de especies de *Fusarium* potenciales productoras de micotoxinas en el agroecosistema soja. Revista UNCUYO. FCA. 47(2): 171-184.
- 15. Crovo, V.; Clemente, G. E. 2015. Eficacia de fungicidas de síntesis y biológico en base a trichoderma harzianum para controlar patógenos de semillas de soja. Revista FAVE. FCA. 14(2): 1-13.
- 16. Díaz, M.; Pereyra, S. 2011. Fusariosis de la espiga de trigo y cebada. <u>In:</u> Pereyra, S.; Díaz de Ackermann, M.; German, S.; Cabrera, K. eds. Manejo de enfermedades en trigo y cebada. Montevideo, INIA. pp. 111-128 (Serie Técnica no. 189).
- 17. \_\_\_\_\_\_. 2012. Fusarium species infecting soybean roots: frequency, aggressiveness, yield impact and interaction with the soybean cyst nematode. PhD. thesis. Ames, Iowa, United States. Iowa State University. 161 p.
- 18. \_\_\_\_\_.; Leandro, L. F.; Munkvold, G. P. 2013a. Aggressiveness of Fusarium species and impact of root infection on growth and yield of soybeans. Phytopathology. 103(8): 822-832.

- 19. \_\_\_\_\_\_\_\_; Munkvold, G. P.; Ellis, M. L.; Leandro, L. F. S. 2013b.

  Distribution and frequency of *Fusarium* species associated with soybean roots in Iowa. Plant Disease. 97(12): 1557-1562.
- 20. Distéfano, S. 2002. Enfermedades de la soja. IDIA XXI. 2(3): 68-74.
- 21. Ellis, M. L.; Broders, K. D.; Paul, P. A.; Dorrance, A. E. 2011. Infection of soybean seed by *Fusarium graminearum* and effect of seed treatments on disease under controlled conditions. Plant Disease. 95(4): 401-407.
- 22. \_\_\_\_\_\_.; Jimenez, D. R. C.; Leandro, L. F.; Munkvold, G. P. 2014.

  Genotypic and phenotypic characterization of fungi in the *Fusarium oxysporum* species complex from soybean roots. Phytopathology. 104(12): 1329-1339.
- 23. EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, BR). 2001. Tecnologías de producao de soja Regiao Central do Brasil 2001/2002. Brasilia. 267 p.
- 24. Farias, G. M.; Griffin, G. J. 1990. Extent and pattern of early soybean seedling colonization by *Fusarium oxysporum* and *F. solani* in naturally infested soil. Plant and Soil. 123(1): 59-65.
- 25. Fehr, W. R.; Caviness, C. E.; Burmood, D. T.; Pennington, J. S. 1977. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill 1. Crop Science. 11(6): 929-931.
- 26. Ferraris, G.; González Anta, G.; Díaz Zorita, M. 2006. Aportes actuales y futuros de tratamientos biológicos sobre la nutrición nitrogenada y producción de soja en el cono Sur. <u>In</u>: Congreso de Soja del Mercosur (3º., 2006, Rosario, Argentina). Mercosoja 2006: conferencias plenarias, foros y workshops. Rosario, s.e. pp. 85-89.
- 27. Fravel, D.; Olivain, C.; Alabouvette, C. 2003. *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. New Phytologist. 157(3): 493-502.
- 28. Gally, T. 2006. Enfermedades de las semillas de soja en Argentina. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. no. 78: 86-90.
- 29. Gamba, F. 2008. Evaluación comparativa de una nueva formulación de fungicida curasemillas para el control de enfermedades sobre

- partidas de semilla de soja de calidad comprometida. Montevideo, Facultad de Agronomía. 4 p.
- 30. Gepp, V.; Mondino, P. 2011. Control químico. (en línea). Montevideo, Facultad de Agronomía. 17 p. Consultado 4 mar. 2017. Disponible en <a href="http://www.pv.fagro.edu.uy/cursos/pvh/DocsPVH/C-QUIMICO.pdf">http://www.pv.fagro.edu.uy/cursos/pvh/DocsPVH/C-QUIMICO.pdf</a>
- 31. Gibson, L.; Benson, G. 2005. Origin, history, and uses of soybean (*Glycine max*). Ames, Iowa State University. Department of Agronomy. 1 p.
- 32. González, S. s.f. Eficiencia de los fungicidas para el control de enfermedades en semillas de soja. (en línea). Canelones, Calister. s.p. Consultado 21 ago. 2017. Disponible en <a href="http://www.calister.com.uy/wp-content/files\_mf/1372708431ResultadoCalister2012INIA.pdf">http://www.calister.com.uy/wp-content/files\_mf/1372708431ResultadoCalister2012INIA.pdf</a>
- 33. \_\_\_\_\_. 2006. Enfermedades en el cultivo de soja. ¿Transmisibles por semilla? Cangüé. no. 28:37-39.
- 35. Goulart, A. C. P. 1997. Fungos em sementes de soja: detecção e importancia. Dourados, EMBRAPA. CPAO. 58 p.
- 36. Henning, A. A. 2005. Patología e tratamento de sementes: noções gerais. Londrina, EMBRAPA. CNPSo. 52 p.
- 37. Impactos del cultivo de soja en Uruguay. Cambios en el manejo de la tierra y en el uso de agroquímicos. s.f. (en línea). Montevideo, REDES. 14 p. Consultado 12 ago. 2016. Disponible en <a href="http://www.redes.org.uy/wp-content/uploads/2012/07/Impactos-del-cultivo-de-soja-en-Uruguay.pdf">http://www.redes.org.uy/wp-content/uploads/2012/07/Impactos-del-cultivo-de-soja-en-Uruguay.pdf</a>
- 38. Ivancovich, A. 2011. Diagnóstico y manejo de enfermedades de soja. Buenos Aires, INTA. 96 p.

- 39. Jin, H.; Hartman, G. L.; Nickell, C. D.; Widholm, J. M. 1996. Characterization and purification of a phytotoxin by *Fusarium solani* the causal agent of soybean sudden death syndrome. Phytopathology. 86(3): 277-282.
- 40. Kantolic, A.; Giménez, P.; De La Fuente, E.; Giménez, P. 2006. Soja. In: De la Fuente, E. B.; Gil, A.; Giménez, P. I.; Kantolic, A. G.; López Pereira, M.; Plos Chuk, E. L.; Windauer, L. B. eds. Cultivos industriales. Buenos Aires, EFA. pp. 95-141.
- 41. \_\_\_\_\_. 2008. Control ambiental y genético de la fenología del cultivo de soja: impactos sobre el rendimiento y la adaptación de genotipos. Revista de la Facultad de Agronomía. 28(1): 63-88.
- 42. Killebrew, J. F.; Roy, K. W.; Abney, T. S. 1993. Fusaria and other fungi on soybean seedlings and roots of older plants and interrelationships among fungi, symptoms, and soil characteristics. Canadian Journal of Plant Pathology. 15(3): 139-146.
- 43. Kohli, M. M. 1995. Conceptos básicos en el manejo de enfermedades de cultivos. <u>In</u>: Curso de Manejo de Enfermedades del Trigo (1995, Pergamino, Argentina). Las enfermedades del trigo en el cono Sur. Buenos Aires, CIMMYT. pp. 1-21.
- 44. Lago, M. E. 2009. Enfermedades de tallo y raíz en soja. INTA. Para Mejorar la Producción. no. 42: 119-123.
- 45. Lapitz, R.; Evia, G.; Gudynas, E. 2004. Soja y carne en el MERCOSUR: comercio, ambiente y desarrollo agropecuario. Montevideo, Coscoroba. 192 p.
- 46. Litardo, M. C. 2014. Enfermedades en semillas de soja. (en línea). Lujan, Argentina, Universidad Nacional de Lujan. Patología Vegetal. s.p. Consultado 12 ago. 2016. Disponible en <a href="http://www.patologiavegetal.unlu.edu.ar/?q=node/46">http://www.patologiavegetal.unlu.edu.ar/?q=node/46</a>
- 47. Mantecón, J. D. 2003. Evaluación de fungicidas curasemillas en el control de tizón de la vaina y del tallo (*Diaphorte/Phomopsis*) y damping-off (*Fusarium* spp.) en semillas de soja. (en línea). Balcarce, INTA. 2 p. Consultado 3 may. 2016. Disponible en <a href="https://inta.gob.ar/balcarce/info/documentos/agric/oleag/soja/mantecon2.htm">https://inta.gob.ar/balcarce/info/documentos/agric/oleag/soja/mantecon2.htm</a>

- 48. Manual de plaguicidas de Centroamérica. (en línea). 2017. Heredia, Universidad Nacional De Costa Rica. s.p. Consultado 12 ago. 2017. Disponible en <a href="http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/">http://www.plaguicidasdecentroamerica.una.ac.cr/</a>
- 49. Marcinkowska, J. 1985. Fungi of the genus *Fusarium* as pathogens of soybean seedling. Acta Agrobotanica. 38(2): 123-135.
- 50. Melgar, R.; Vitti, G.; Benites, V. D. M. 2011. Fertilizando para altos rendimientos: soja en Latinoamérica. Instituto Internacional de la Potasa. Boletín no. 20. 179 p.
- 51. MGAP. DIEA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Investigaciones Estadísticas Agropecuarias, UY). 2016. Anuario estadístico agropecuario. Montevideo. 198 p.
- 52. \_\_\_\_\_. 2018. Anuario estadístico agropecuario. Montevideo. 210 p.
- 53. Munkvold, G. P.; O'mara, J. K. 2002. Laboratory and growth chamber evaluation of fungicidal seed treatments for maize seedling blight caused by *Fusarium* species. Plant Disease. 86(2): 143-150.
- 54. Nakayama, F. 1980. Los componentes fisiológicos del rendimiento en la soja. Revista de la Facultad de Agronomía. 1(1): 97-107.
- 55. Nyvall, R. F. 1976. Colonization of soybeans by species of *Fusarium*. Mycologia. 68(5): 1002-1010.
- 56. Osman, A. G.; Sherif, A. M.; Elhussein, A. A.; Mohamed, A. T. 2012. Sensitivity of some nitrogen fixers and the target pest *Fusarium oxysporum* to fungicide thiram. Interdisciplinary Toxicology. 5(1): 25-29.
- 57. Pereyra, S.; Dill-Macky, R. 2010. *Fusarium* species recovered from wheat and barley grains in Uruguay, pathogenicity and deoxynivalenol content. Agrociencia (Uruguay). 14(2): 33-44.
- 58. \_\_\_\_\_.; Castro, M.; Germán, S.; Quinke, M.; Silva, P.; Vázquez, D.; Cal, A. 2014. Avances en el manejo de la fusariosis de la espiga en trigo. Revista INIA. no. 37: 43-45.

- 59. Pérez, C.; Hoffman, E.; Arbeletche, P. 2011. Las enfermedades de soja en Uruguay. <u>In</u>: Sillon, M.; Muñoz, R. eds. Las enfermedades de la soja y su importancia en los países del Mercosur. Buenos Aires, Hemisferio Sur. pp. 291-305.
- 60. \_\_\_\_\_\_.; Villar, A.; Palladino, C.; Hoffman, E. 2013. Enfermedades foliares en soja: comprendiendo su dinámica en las condiciones de Uruguay. <u>In</u>: Simposio Nacional de Agricultura de Secano (3º., 2013, Paysandú, Uruguay). No se llega si no se sabe a dónde ir. Montevideo, Hemisferio Sur. pp. 107-116.
- 61. Perry, E. 2006. Damping-off diseases in the garden. (en línea). Davis, University of California. Agriculture and Natural Resources. 2 p. Consultado 4 mar. 2017. Disponible en <a href="http://ipm.ucanr.edu/PMG/PESTNOTES/pn74132.html">http://ipm.ucanr.edu/PMG/PESTNOTES/pn74132.html</a>
- 62. Pioli, R. 2000. Enfermedades de soja. Agromensajes. no. 2: 10-12.
- 63. Queiroz, T. M.; Meneghetti, R. C.; Balardin, R. S. 2004. Dano devido à podridão vermelha da raiz na cultura da soja. Ciência Rural (Santa Maria). 34(4): 991-996.
- 64. Reznikov, S.; González, V.; Vellicce G.; Castagnaro, A. P.; Ploper, L. D. 2011. Estudios para el control de la podredumbre carbonosa de la soja en Tucumán, República Argentina. San Miguel de Tucumán, Universidad Nacional de Tucumán. Facultad de Agronomía y Zootecnia. 4 p.
- 65. Rizvi, S.; Yang, X. 1996. Fungi associated with soybean seedling disease in Iowa. Plant Disease. 80(1): 57-60.
- 66. Rocha, P.; Villalobos, V. 2012. Estudio comparativo entre el cultivo de soja genéticamente modificada y el convencional en Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay. San José, CR, IICA. 88 p.
- 67. Salvagiotti, F.; Capurro, J.; Enrico, J. M. 2009. El manejo de la nutrición nitrogenada en soja. INTA. Para Mejorar la Producción. no. 42: 45-51.
- 68. Scandiani, M. M. s.f. Tratamiento de la semilla de soja con fungicidas curasemillas. (en línea). Buenos Aires, Rizobacter. 9 p. Consultado 9 abr. 2017. Disponible en

- http://www.rizobacter.com/assets/ensayos\_rizobacter/10\_tratamie\_nto\_con\_fungicidas
- 69. \_\_\_\_\_.; Luque, A. G. 2009. Identificación de patógenos en semilla de soja. Revista Análisis de Semillas. Suplemento especial. no. 2: 148 p.
- 70. Schlub, R. L.; Lockwood, J. L.; Komada, H. 1981. Colonization of soybean seeds and plant tissue by *Fusarium* species in soil. Phytopathology. 71(7): 693-696.
- 71. Sella, L.; Gazzetti, K.; Castiglioni, C.; Schafer, W.; Favaron, F. 2014. Fusarium graminearum possesses virulence factors common to Fusarium head blight of wheat and seedling rot of soybean but differing in their impact on disease severity. Phytopathology. 104(11): 1201-1207.
- 72. Shurtleff, W.; Aoyagi, A. 2004. The soybean plant: botany, nomenclature, taxonomy, domestication, and dissemination. (en línea). Lafayette, CA, Soynfo Center. s.p. Consultado 15 ago. 2015. Disponible en <a href="http://www.soyinfocenter.com/HSS/soybean\_plant2.php">http://www.soyinfocenter.com/HSS/soybean\_plant2.php</a>
- 73. Sillon, M. R.; Aznarez, G.; Chiaravalle, W.; Piriz, M.; Buemo, M.; Magliano M. F. 2011. Evolución de las enfermedades foliares del cultivo de soja en la República Oriental del Uruguay-zafras 2007/2011. <a href="mailto:ln">In</a>: Congreso de la Soja del MERCOSUR (5º., 2011, Rosario, AR). Trabajos presentados. Tucumán, AR, ACSOJA. s.p.
- 74. Singh, G. 2010. The soybean: botany, production and uses. Wallingford, CABI. 512 p.
- 75. Stewart, S. 2006. Enfermedades foliares en el cultivo de soja: como diferenciarlas y controlarlas. Revista INIA. no. 9: 18-20.
- 76. \_\_\_\_\_\_.; Rodríguez, M. 2016. Manual de identificación de enfermedades de la soja. 2ª. ed. ampl. y corr. Montevideo, INIA. 74 p. (Boletín de Divulgación no. 104).
- 77. Toledo, R. 2012. Ecofisiología y manejo del cultivo de soja. Córdoba, Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 31 p.

- 78. Urrea, K.; Rupe, J. C.; Rothrock, C. S. 2013. Effect of fungicide seed treatments, cultivars and soils on soybean stand establishment. Plant Disease. 97(6): 807-812.
- 79. URUGUAY XXI, UY. 2013. Promoción de Inversiones y Exportaciones. Oleaginosas. Montevideo. 22 p.
- 80. \_\_\_\_\_. 2018. Promoción de Inversiones y Exportaciones.

  Oportunidades de inversión. Agronegocios. Montevideo. 47 p.
- 81. Walker, J. 1948. Vegetable seed treatment. The Botanical Review. 14(9): 588-601.
- 82. Wall, M. T. 1983. Cultural, pathological, and environmental factors influencing treatment of soybean seeds with fungicides. PhD. thesis. Ames, Iowa, United Sates. Iowa State University. 120 p.
- 83. Yasem De Romero, M. G.; Pasqualini, A. I.; Romero, E. R.; Ramallo, J. C.; Lori, G. 2000. Virulencia de tres especies de *Fusarium* en soja, efectos en la emergencia de plántulas. Logroño, España. Universidad de la Rioja. Fitopatología. 35(1): 26-31.
- 84. Zarza, R.; González, S. 2010. Uso de insecticidas y fungicidas curasemillas durante el almacenamiento y su efecto en la germinación y vigor de leguminosas forrajeras. <u>In:</u> Altier, N.; Rebuffo, M.; Cabrera, K. eds. Enfermedades y plagas en pasturas. Montevideo, INIA. pp. 123-136 (Serie Técnica no. 183).
- 85. Zhang, J. X.; Xue, A. G.; Cober, E. R.; Morrison, M. J.; Zhang, H. J.; Zhang, S. Z.; Gregorich, E. 2013. Prevalence, pathogenicity and cultivar resistance of *Fusarium* and *Rhizoctonia* species causing soybean root rot. Canadian Journal of Plant Science. 93(2): 221-236.

## 10. ANEXOS

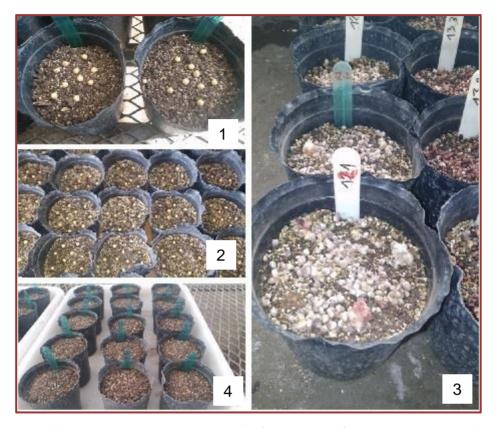
## Anexo I

Figura 1. Localización del ensayo estación experimental INIA La Estanzuela.



Figura 2. Inoculación de sustrato con aislados de *Fusarium* y procedimiento de repique de colonias en cámara de flujo laminar con bisturí flameado.





1-2. Macetas con 10 semillas de soja / 3. Inoculación de macetas con el sustrato-Fusarium / 4. Macetas cubiertas con la mezcla de tierra, arena y vermiculita.

Figura 3. Siembra de ensayo de patogenicidad



Arriba: condiciones de fitotrón. / abajo: condiciones de Invernáculo. Figura 4. Diferentes ambientes evaluados.

#### Anexo II

Resultados del análisis de varianza ANOVA y test de Tukey para la variable plantas emergidas en ensayo de patogenicidad. Análisis conjunto para ambos ambientes (fitotrón e invernáculo) y ambas fechas de siembra (mayo y setiembre).

ANOVA para plantas emergidas						
Fuente	l GI	SC	СМ	Valor F	Valor p	
Modelo	59	4504,022917	76,33937		<u>ναιοι μ</u> <.0001	
Error	420	916,125000	2,18125	33	<.000 i	
Total corregido	479	5420,147917	2,10120			
	$R^2$	CV	ECM	PE media		
	0,830978	32,17951	1,476906	4,589583		
Fuente	GI	SC	СМ	Valor F	Valor p	
1 .						
Lectura	1	2664,918750	2664,918750	1221,74	<.0001	
Lectura Lugar	1 1	2664,918750 82,502083	2664,918750 82,502083	1221,74 37,82		
		•	•	•		
Lugar	1	82,502083	82,502083	37,82	<.0001 0,0522	
Lugar Lect.*lug.	1	82,502083 8,268750	82,502083 8,268750	37,82 3,79 35,35	<.0001 0,0522	
Lugar Lect.*lug. Tratamiento	1 1 14	82,502083 8,268750 1079,429167	82,502083 8,268750 77,102083	37,82 3,79 35,35	<.0001 0,0522 <.0001	

## Tukey's Studinized Range (HSD) test para plantas emergidas

0,05
420
2,18125
1,97029
1,2597

#### Anexo III

Resultados del análisis de varianza GLM y test LSD para la variable plantas emergidas vivas transformado y materia seca total en ensayo de efectividad de curasemillas.

## GLM para plantas emergidas vivas transformado (EVt)

Fuente	GI	SC	CM	Valor F	Valor p
Modelo	32	47,498651	1,48433	11,33	<.0001
Error	231	30,271365	0,13104		
Total corregido	263	77,770016			
	$R^2$	CV	ECM	EVt media	

$R^2$	CV	ECM	EVt media
0,6108	14,0734	0,362001	2,572237

Fuente	GI	SC	CM	Valor F	Valor p
Trat. 1	32	47,498651	1,48433	11,33	<.0001

## Tests (LSD) para plantas emergidas vivas transformado (EVt)

Alfa (α)	0,05
GL error	231
SC error	0,131
Valor critico de t	1,9703
DMS	0,3566

## GLM para materia seca total (MS)

Fuente	Gl	SC	CM	Valor F	Valor p
Modelo	32	19,379092	0,60560	7,62	<.0001
Error	231	18,360293	0,07948		
Total corregido	263	37,739385			

$R^2$	CV	ECM	MS media	
0,513498	25,60946	0,281925	1,100863	

Fuente	Gl	SC	CM	Valor F	Valor p
Trat. 1	32	19,379092	0,60560	7,62	<.0001

## Tests (LSD) para materia seca total (MS)

Alfa (α)	0,05
GL error	231
SC error	0,079482
Valor critico de t	1,97029
DMS	0,2777

#### Anexo IV

Resultados del análisis de varianza GLM y test LSD para la variable plantas emergidas vivas transformado en ensayo de efectividad de curasemillas, para el promedio de las tres especies de *Fusarium* evaluadas.

## GLM para plantas emergidas vivas Transformado (EVt)

Aislado	Aislado	
F. oxysporum	G	2,86299857
F. sambucinum	O 2,39798826	
F. gramineraum	S	2,7443276

## Tests (LSD) para plantas emergidas vivas transformado (EVt)

Pr >  t  for H0:MCM (i)=MCM(j) Variable dependiente: EVt				
i/j	G	0	S	
G		<.0001	0,0186	
0	<.0001		<.0001	
S	0,0186	<.0001		

#### **Definiciones**

Alfa (α): valor alfa CM: cuadrado medio

CV: coeficiente de variación

DMS: diferencia minima significativa

ECM: error cuadratico medio

EVt media: emergidas vivas transformadas

GL error: grados de libertad del error

GI: grados de libertad

MCM: Minimo Cuadrado Medio

MS media: emergidas vivas transformadas

PE media: plantas emergidas

R<sup>2</sup>: R cuadrado

SC error: suma de cuadrados del error

SC: suma de cuadrados