

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA

DETERMINACIÓN DE LA VARIABILIDAD PATOGENICA DE *Phytophthora*  
*sojae* EN URUGUAY

por

Agustina SANS DIGHIERO

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

MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2019

Tesis aprobada por:

Director:

---

Lic. Biol. (PhD.) Silvina Stewart

---

Ing. Agr. (Mag.) Cintia Palladino

---

Ing. Agr. (MSc.) Fernanda Gamba

Fecha:

18 de junio de 2019

Autora:

---

Agustina Sans Dighiero

## AGRADECIMIENTOS

Deseo agradecer en primer lugar a la directora de tesis Lic. PhD. Silvina Stewart por la sugerencia del tema a desarrollar, su colaboración y las enseñanzas brindadas para la realización de este trabajo.

También vaya mi agradecimiento a INIA quien brindó las facilidades para el trabajo en laboratorio y a William Álvarez y Samuel Rabaza por estar siempre en todos los detalles del trabajo de invernáculo.

Un especial reconocimiento a la Lic. Sully Toledo, por su disponibilidad, amabilidad y responsabilidad a la hora de corregir. Su dedicación, fue muy importante para mí.

A mi familia y amigos por el apoyo incondicional durante toda la realización del trabajo. Especialmente a Carolina y Nelsa que me apoyaron y acompañaron en todo el proceso.

## TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VI
1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....	1
2. <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u> .....	2
2.1 CULTIVO DE SOJA.....	2
2.2 EL CULTIVO DE SOJA EN URUGUAY.....	2
2.3 HUÉSPED.....	4
2.3.1 <u>Descripción de la soja</u> .....	4
2.3.2 <u>Requisitos para el crecimiento</u> .....	5
2.4 PATÓGENO.....	8
2.4.1 Origen e historia.....	8
2.4.2 <u>Descripción del patógeno</u> .....	8
2.4.3 <u>Fases – sexual/asexual</u> .....	9
2.4.4 <u>Biología</u> .....	9
2.4.5 <u>Clasificación y morfología de <i>Phytophthora sojae</i></u> .....	10
2.4.6 <u>Descripción de la infección y síntomas</u> .....	11
2.4.7 <u>Condiciones ambientales predisponentes</u> .....	14
2.4.8 <u>Manejo y medidas preventivas para la enfermedad</u> .....	14
2.4.9 <u>Pérdidas producidas por la enfermedad</u> <u>en el mundo y en la región</u> .....	14
2.5 INTERACCIÓN HUÉSPED-PATÓGENO.....	15
2.5.1 <u>Interacción y variabilidad patogénica</u> .....	15
2.5.2 <u>Genes y tipos de resistencia en huésped</u> .....	18
3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> .....	21
3.1 METODOLOGÍA.....	21
3.1.1 <u>Colección del patógeno</u> .....	21
3.1.2 <u>Obtención y multiplicación del inóculo</u> .....	22
3.1.3 <u>Siembra de diferenciales de soja</u> .....	23
3.1.4 <u>Inoculación</u> .....	25
3.1.5 <u>Evaluación y determinación de patotipos</u> .....	27
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u> .....	28
5. <u>CONCLUSIONES</u> .....	30
6. <u>RESUMEN</u> .....	31

7. <u>SUMMARY</u> .....	32
8. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....	33

## LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Promedio nacional del área sembrada, producción y rendimiento, del cultivo de soja por año agrícola entre 2007-2018.....	3
2. Interacciones entre variedades de plantas con distintos genes de resistencia y razas del patógeno.....	15
3. Comprobación cuadrática de las combinaciones genéticas y tipos de reacción a las enfermedades en una relación hospedante - patógeno basada en la teoría de gen por gen, para un solo gen.....	16
4. Interacción complementaria de dos genes de resistencia del hospedante y de dos genes de virulencia correspondientes del patógeno y sus tipos de reacción.....	17
5. Origen de los aislados de <i>P. sojae</i> utilizados.....	21
6. Set diferencial para <i>P. sojae</i> con sus respectivos genes/alelos de resistencia ( <i>Rps</i> ).....	24
7. Patotipos de <i>P. sojae</i> determinados para el Sur - Oeste del Uruguay.....	28
Figura No.	Página
1. Evolución histórica del área de soja en Uruguay.....	3
2. Ciclo reproductivo de <i>Phytophthora spp.</i> con sus diferentes tipos de esporas sexuales y asexuales.....	11
3. Formación de esporas de <i>Phytophthora sojae</i> y la atracción de zoosporas a raíces de soja.....	12
4. Ciclo de la podredumbre de raíz y tallo de soja causado por <i>Phytophthora sojae</i> .....	13
5. Repique de aislados.....	23
6. Siembra de 14 diferenciales de soja por bandeja.....	24
7. Técnica para inocular.....	26
8. Cámara húmeda dentro de la bolsa de nylon.....	26
9. Evaluación de los diferenciales.....	27
10. Porcentaje de aislados compatibles con los genes de resistencia de la soja ( <i>Rps</i> ).....	29

## 1. INTRODUCCIÓN

*Phytophthora sojae* Kaufmann & Gerdemann es un Oomicete del reino Stramenopila que causa la podredumbre de raíz y tallo en soja. Es un patógeno que puede infectar a la soja en cualquier estadio fenológico y, es el responsable de enfermedades en pre y post emergencia, como es el caso del “damping-off”, o, en plantas adultas, la podredumbre de la raíz y base de tallo.

Esta enfermedad está considerada como la segunda o tercera enfermedad más importante de la soja en el mundo (Wrather y Koenning, 2009). Ha causado importantes mermas en la producción de grano, tanto en Estados Unidos de Norte América como en América del Sur, especialmente en Argentina y Brasil.

Las variedades de soja sembradas en Uruguay son de origen extranjero. Generalmente vienen con la información del criadero que indica la resistencia a distintas razas de *P. sojae*. Para que esta información pueda ser utilizada es fundamental conocer que razas o patotipos predominan en las condiciones del país.

A pesar de que este patógeno ya había sido detectado décadas antes en varios países, en Uruguay los primeros indicios se ubican durante la zafra 2013 – 2014. El mismo, junto a otros patógenos fueron los causantes de la muerte de plántulas de soja en pre y post emergencia luego de fuertes precipitaciones previas y posteriores a las siembras en suelos mal drenados (Sans et al., 2017).

La Lic. Biol. (PhD.) Silvina Stewart (INIA) recogió muestras de tejido de los diferentes cultivos afectados, de donde se aisló al patógeno, cultivó y repicó para esta tesis.

El objetivo de esta tesis fue determinar los patotipos de *Phytophthora sojae* que se encuentran presentes en los suelos de nuestro país.

Esta información servirá también para determinar la compatibilidad de los diferentes patotipos aislados con las variedades sembradas a nivel comercial y, a su vez, se podrá seleccionar por resistencia dentro del programa de mejoramiento de soja local.

## 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 CULTIVO DE SOJA

Actualmente es uno de los cultivos oleaginosos más importantes en el mundo. Estados Unidos es el líder de producción mundial (Koivisto s.f., Casal 2017), seguido por Brasil y Argentina. En la Unión Europea es prácticamente nula la producción, y, ocupa el segundo lugar después de China como importador de soja (Maluenda, 2018).

Es cultivada por sus granos que se utilizan para la alimentación, tanto humana como animal y por sus características oleaginosas. Su tenor proteico es mayor al de la mayoría de los cereales (UBA. FA s.f., Hildebrand 1986, Cataldi 2008). El grano tiene un 40% de proteína de excelente calidad y 20% de aceite comestible e industrializable. Los granos enteros se pueden consumir directamente o a través de la panificación, aunque su mayor valor económico está basado en la obtención de aceite y la utilización de las harinas de extracción. Su principal destino es como suplemento proteico de alto valor alimenticio para los animales, por su balanceado contenido aminoacídico. Un subproducto de la extracción del aceite de relevancia es la lecitina de soja, por las características emulsificantes y antioxidantes (UBA. FA s.f., Hildebrand 1986).

### 2.2 EL CULTIVO DE SOJA EN URUGUAY

La soja, originaria de Asia, ocupa un lugar preponderante en la dieta de su población. Hoy es uno de los cultivos alimentarios más importantes en el mundo. La producción del cultivo se ha extendido a nivel mundial, los primeros lugares en producción lo ocupan EE.UU., Brasil, Argentina y China (Uruguay XXI 2013, Calzada 2014).

Uruguay no ha sido ajeno a la implantación del cultivo de soja, y el área dedicada al mismo ha crecido exponencialmente en los últimos años y pasó a ser el principal cultivo de secano (Giménez, 2014). El incremento en área del cultivo se dio a partir del año 2000, en el cual se sembraron 20 mil ha de soja (Hernández, 2013, Figura No. 1) y mantuvo un crecimiento sostenido de la superficie sembrada hasta la zafra 2014-2015 (MGAP. DIEA 2015a, 2015b, 2016, 2018). La producción de esta oleaginosa se ha concentrado en el litoral oeste del país (Blasina y Asociados, 2015a).

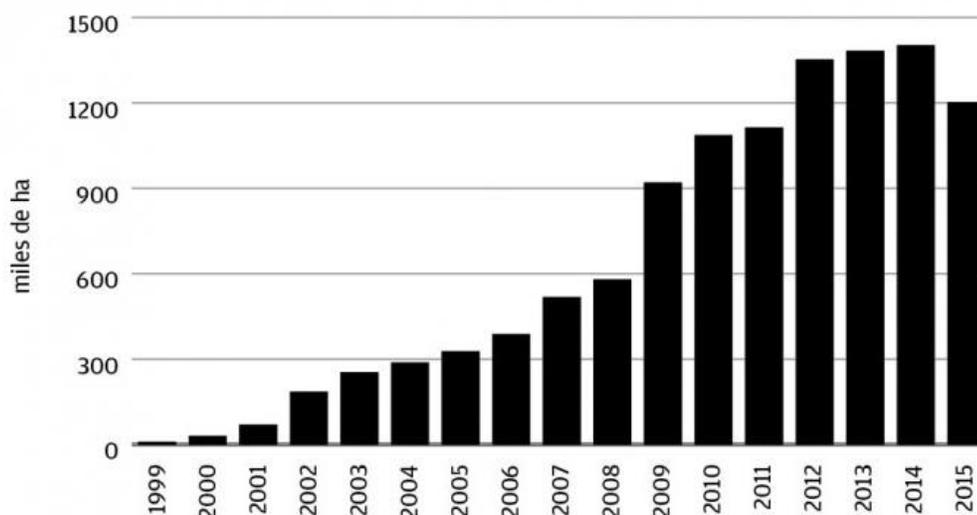


Figura No. 1. Evolución histórica del área de soja en Uruguay

Fuente: Blasina y Asociados (2015b).

Cuadro No. 1. Promedio nacional del área sembrada, producción y rendimiento, del cultivo de soja por año agrícola entre 2007-2018

Cultivo/Zafra		2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2012/13	2013/14	2014/15	2015/16	2016/17	2017/18
Soja	Producción (k, tn)	772,9	1028,6	1816,8	1541,0	2112,0	2765,0	3162,0	3109,3	2208,0	3204,0	1334,0
	Área sembrada (k, ha)	461,9	577,8	863,2	862,1	883,7	1050,0	1321,4	1334,0	1140,0	1089,0	1099,0
	Rendimiento (kg/ha sembrada)	1673,0	1780,0	2105,0	1788,0	2390,0	2634,0	2393,0	2331,0	1937,0	2951,0	1214,0
	Precio U\$\$/ton	288,0	462,0	396,0	380,0	485,0	547,0	499,0	459,0	380,0	334,0	338,0

Fuente: MGAP. DIEA (2015a, 2018).

El área sembrada pasó de 461,9 mil ha en la zafra 2007/2008 a 1.334 mil ha en 2014/15, cifra que no se ha vuelto a alcanzar. El rendimiento promedio nacional ronda los 2000 kg/ha, teniendo su pico máximo en la zafra 2016/17. El precio de la soja ha variado entre un mínimo de 288 y a un máximo de 547 U\$\$/tonelada en esta última década (Cuadro No. 1).

Son varios los factores que incidieron en la expansión del área de la soja en el Uruguay. El valor de mercado de la soja en el país (“oro verde de Uruguay”) según El Observador (2013), ha incidido en el aumento de superficie sembrada. Según Musa et al. (2010), hubo la reconversión de los productores ganaderos a la producción agrícola y además las inversiones de productores y empresas extranjeras en tierras arrendadas. Estos inversores extranjeros

fueron atraídos por el bajo precio de la tierra, la baja carga impositiva sobre la exportación, condiciones agroclimáticas beneficiosas, tecnologías de fácil incorporación y aumento del precio internacional de la soja. Al aumentar el capital invertido en agricultura, se valoriza en forma creciente el recurso tierra, tanto para el arrendamiento como para la venta. Ante el incremento del precio de la renta, muchos productores arriendan sus tierras a los “pools de siembra” desarrollados por las grandes empresas.

Musa et al. (2010), afirman que otra de las causas del incremento de producción de soja fue el desarrollo del paquete tecnológico siembra directa-glifosato-soja transgénica, por su bajo costo y fácil implementación, su adaptación a la región y su adopción generalizada en grandes escalas. La tecnología de la siembra directa redujo los costos en combustibles y habilitó el cultivo en nuevas zonas no cultivables con el sistema convencional del laboreo del suelo.

Rocha y Villalobos (2012), en referencia al tema, indican que a partir del año 2000 (fecha en la que expiró la patente del glifosato), el desarrollo de las industrias de síntesis del glifosato, en Argentina, Brasil y Paraguay permitió abaratar los costos de este.

## 2.3 HUÉSPED

### 2.3.1 Descripción de la soja

La soja o soya (*Glycine max* (L.) Merrill), híbrido tetraploide ( $2n=40$ ), es una planta perteneciente a la familia de las leguminosas (Fabaceae), originaria de China. Fue primariamente introducida en Europa y América del Norte como forraje (Bureau de la Biosécurité Végétale, 1996).

Es una planta herbácea de crecimiento anual con ciclo primavera–estival, que dura entre 3 y 7 meses (Infoagro.com s.f, Blum et al. 2008.). Su metabolismo corresponde al tipo fotosintético C3, fijando el CO<sub>2</sub> atmosférico en un compuesto de 3 carbonos, el 3-fosfo glicerato. Al utilizar la RubisCo como sustrato a la pentosa Ribulosa 1,5 bis-fosfato, se forman dos moléculas 3-fosfo glicerato. Esta reacción es clave ya que es la responsable del aumento de la biomasa vegetal a nivel del planeta.<sup>1</sup> Tiene un diámetro de entre 0,40 a 1,0 metros y puede alcanzar entre 0,4 a 1,5 metros de altura. Suele ser erecta y con ramificaciones con tendencia a vuelco, aunque existen variedades un poco

---

<sup>1</sup> Urrestarazú. H. 2018. Com. personal.

más resistentes al mismo (UBA. FA s.f., Bureau de la Biosécurité Végétale 1996).

La planta presenta una raíz pivotante que puede explorar hasta 2 metros, con gran cantidad de ramificaciones laterales. Las vainas, tallos y hojas pubescentes, varían el color de los pelos de rubio a pardo – grisáceo (Infoagro.com s.f., Bureau de la Biosécurité Végétale 1996, Kantolic et al. 2006).

Las primeras dos hojas son unifoliadas, opuestas, con forma oval. Las siguientes trifoliadas, alternas, de tamaño mediano, largamente pecioladas. Las hojas caen antes que las semillas maduren. Las flores papilionadas, tienen una disposición axilar, se agrupan en racimos axilares con 2 a 35 flores cada uno, su coloración varía entre blancas, rosas o púrpuras según sea el genotipo, son pequeñas, in-conspicuas y auto fértiles (Infoagro.com s.f., Bureau de la Biosécurité Végétale 1996, Kantolic et al. 2006).

El fruto es una vaina dehiscente, que se abre por ambos lados, pilosa que crece en grupos de 3 a 5. Las mismas tienen entre 3 a 7 cm de longitud y generalmente contienen de 1 y 5 (raramente más) semillas. Las mismas pueden variar su forma según el cultivar, desde ovales a esféricas o alargadas y aplanadas. El tamaño oscila entre 5 a 10 mm de diámetro y su color amarillo. En algunas variedades se puede observar el hilio, un punto negro en la semilla, por donde se une a la planta (Infoagro.com s.f., UBA. FA s.f., Bureau de la Biosécurité Végétale 1996, Kantolic et al. 2006). Según Burton (1997), las semillas están conformadas por un embrión y un tegumento, el cual a su vez presenta tres capas: epidermis, hipodermis y un parénquima interno. Por fuera, las semillas están cubiertas por una capa cerosa llamada cutícula. La misma otorga impermeabilidad a la semilla, dependiendo de la cantidad, tamaño y forma de los poros que tiene en su superficie. Los mismos varían su ubicación en la superficie y en cantidad, dependiendo del genotipo de la soja. Blackman et al. (1992), Burton (1997) concuerdan en el hecho, que la capa externa de la semilla de soja al madurar es dura, resistente al agua y protege al cotiledón e hipocótilo de posibles daños.

### 2.3.2 Requisitos para el crecimiento

La soja, fue definida por varios autores, como una especie de día corto con respuesta cuantitativa al largo de los días (Cregan y Hartwig 1984, Fassio et al. 2017).

Es una planta que, en general es sensible al fotoperiodo a partir del momento en que se expande totalmente su primera hoja trifoliada (2do estadio vegetativo, V2). La floración se induce al llegar al umbral de horas de luz requeridas según el grado de madurez del cultivar. La misma, provoca la transformación de los meristemas vegetativos en meristemas reproductivos (Miguez s.f., Bodrero 2003).

Los estados de desarrollo del cultivo de soja y la duración de sus fases dependen de la temperatura y el fotoperíodo (Kantolic et al., 2006). Según lo expresado por Bodrero (2003), Fassio et al. (2017), los cultivares de soja presentan en general, un fotoperíodo crítico (14h) por debajo del cual el lapso entre la emergencia y la floración no disminuye. Lo autores arriba mencionados afirman que, en casos de fotoperíodos mayores al crítico, se alarga considerablemente el período emergencia-floración. Los cultivares de soja presentan un amplio rango de sensibilidad al fotoperiodo. Existen los genotipos que florecen con fotoperiodos muy largos, otros que lo hacen con fotoperiodos muy cortos, así como también los genotipos insensibles al fotoperiodo (Inouye et al. 1979, Bodrero 2003, Fassio et al. 2017). A su vez, existen situaciones intermedias que interactúan con la temperatura, por lo que según su comportamiento fototérmico se agrupan a los genotipos en diferentes grupos de madurez (GM).

Fassio et al. (2017), mencionan que el origen de la clasificación de los GM tuvo lugar en los EE. UU. La misma divide a los cultivares en los siguientes grupos: 000, 00, 0, I, II y sucesivamente hasta el grupo X. Esta división se basa en la tolerancia a las diferentes temperaturas y fotoperiodos. Es así que el grupo 000 es tolerante a las bajas temperaturas e indiferente al fotoperiodo, por lo que su siembra se realiza en latitudes altas (latitud 45°). Los grupos del otro extremo, que son aquellos que requieren días más cortos para inducir la floración, se siembran en latitudes más cercanas al Ecuador. Es importante conocer cada GM, ya que cada uno se encuentra adaptado a determinada franja de latitudes. La siembra de un cultivar expuesta a fotoperiodos mayores a su crítico, producirá un largo de ciclo más largo. A la inversa si al cultivar se lo expone a fotoperiodos más cortos que su fotoperiodo crítico, resultará que las plantas son de menor tamaño, sobre todo en aquellos cultivares de crecimiento indeterminado (Inouye et al. 1979, Bodrero et al. 1997, Fassio 2017). Para el caso de estos últimos, se reducen la altura y el número de nudos, por atrasos en la fecha de siembra.

A la soja se la clasifica, también, según su hábito de crecimiento en variedades determinadas, semi-determinadas e indeterminadas (UBA. FA s.f., Miguez s.f., Bernard 1972):

- soja de crecimiento determinado: detienen la formación de nudos en el tallo principal y cesa su crecimiento, en altura luego de iniciada la floración.

- soja de crecimiento indeterminado: existe mayor superposición entre las etapas vegetativa y reproductiva luego de la floración. Esto hace que la planta siga creciendo en altura.

Sin embargo, las variedades determinadas y en menor medida las variedades semi-determinadas, luego de la floración, prosiguen su crecimiento vegetativo en las ramas, no así en el tallo principal. A igual GM, las sojas indeterminadas suelen ser más altas que las determinadas, esto se debe a que las primeras continúan creciendo en altura luego de la floración. Para Uruguay, Fassio et al. (2017), indican que los genotipos mejor adaptados al rango de latitudes y fechas de siembra son los pertenecientes a los GM IV, V, VI y VII. Todos los cultivares dentro de esos GM pueden agruparse en tres ciclos: corto ( $GM < 5,4$ ), medio ( $5,4 \leq GM \leq 6,2$ ), y largo ( $GM > 6,2$ ).

La soja es un cultivo que se adapta a diferentes tipos de suelos. Se pueden lograr altos rendimientos, desde una textura arcillosa a una arenosa, siempre y cuando el agua y los nutrientes no sean limitantes (Baigorri, 2010).

Según lo que plantean Fassio et al. (2017) para cada ambiente, el rango óptimo de fechas de siembra se definirá en función de la temperatura del suelo y del aire, la longitud del día o fotoperiodo, y la disponibilidad de agua durante el ciclo del cultivo, sobre todo durante el período crítico. 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 et al., 2006). Además, es necesario conocer el período libre de heladas (120 a 180 días).

Dada la situación actual, en la cual las rotaciones implican dos cultivos al año, la elección de la fecha de siembra de los cultivos de segunda suele quedar supeditada a la cosecha del cultivo anterior y, por ende, al tiempo de barbecho (período entre la cosecha de un cultivo y siembra del siguiente, en el cual se acumula agua en el perfil del suelo, se desintegra el rastrojo y consiguiente acumulación de materia seca, entre otros). Por lo antes mencionado, no siempre suele coincidir la fecha real de siembra, con la fecha óptima de siembra del cultivo. Esto hace a la importancia de manejar cultivares con diferentes grupos de madurez (GM) y así elegir los que mejor se adaptan al rango de fechas de siembra disponibles.

## 2.4 PATÓGENO

### 2.4.1 Origen e historia

*Phytophthora sojae* es un Oomycete, perteneciente al Reino Stramenopila. Este patógeno ha causado importantes pérdidas económicas. Un ejemplo de ello fue la pérdida del 10% de la producción total de soja, lo que equivale a 121.406 ha en Ohio, Estados Unidos de Norte América a fines de la década los 70. Con la incorporación de resistencia mediada por genes mayores, se ha manejado desde ese entonces efectivamente la enfermedad (Dorrance et al., 2007).

*Phytophthora* significa "destructor de plantas" ("Phyton" = planta y "phthora" = destructor) nombre dado por Heinrich Anton de Bary en 1876 luego de estudiar el tizón de la papa que afectó en 1845 a Europa del oeste, principalmente en Irlanda, causando la Gran Hambruna Irlandesa entre los años 1845 y 1849 (Sarasola et al. 1975, Alexopoulos et al. 1996). Esta enfermedad, provocada por *Phytophthora infestans*, destruyó rápidamente la hortaliza, en ese entonces, uno de los alimentos más importantes para los campesinos irlandeses. Entre 1841 y 1851 el censo de población registró un descenso de 1,7 millones de habitantes y los efectos de la hambruna continuaron durante décadas. La papa originaria de América, se introdujo en Europa para terminar con el hambre en ese continente. En ese entonces, en el siglo XIX, los campesinos irlandeses cultivaban la papa para su consumo. Ésta rendía más de una cosecha anual, si las condiciones eran óptimas y a su vez soportaba condiciones de frío extremo. Cuando comenzó la epidemia del tizón causado por *P. infestans*, las ciudades y los pueblos se vieron desbordados por campesinos que llegaban en busca de ayuda, aparecen epidemias como fiebre tifoidea, cólera y disentería. Irlanda perdió más de un cuarto de su población debida a la muerte y al desplazamiento de más de dos millones de personas que emigraron a Inglaterra, Norte América, Sudamérica y Australia. Se considera la Gran Hambruna como una catástrofe social, biológica, política y económica, que marcó de forma permanente el panorama político, cultural y demográfico de Irlanda (Moroy, 2016).

### 2.4.2 Descripción del patógeno

*Phytophthora sojae* es un organismo diploide, cuyo ciclo de vida incluye tanto reproducción sexual como asexual. La característica que le da al grupo su nombre es su estructura sexual: la oóspora (Goodwin 1997, Kendrick 2002).

La interacción entre *P. sojae* y la soja, estudiada por Kaufmann y Gerdemann (1958), causa la podredumbre de raíz y tallo de la planta (PRT), limitando la producción de esta oleaginosa a nivel mundial, siendo capaz de afectar a la planta durante todo el ciclo del cultivo.

*Phytophthora sojae* presenta micelio cenocítico o aseptado, aunque a medida que crece “in vitro” forma falsos septos (Hartman et al., 1999). Los medios más utilizados para cultivar *P. sojae* son: agar lima frijol, V8, agar zanahoria. En medio de cultivo, el micelio crece sobre la superficie y carece de color, las hifas son incoloras y las ramas crecen en ángulo recto (Schmitthenner y Bhat, 1994a).

#### 2.4.3 Fases – sexual/asexual

El género *Phytophthora* se puede reproducir sexual o asexualmente. Las oósporas son estructuras reproductivas del tipo sexual. En las especies homotáticas, auto fértiles, como *P. sojae*, un único individuo es capaz de producir las estructuras sexuales femeninas y masculinas y se auto acopla (Goodwin 1997, Grau et al. 2004). Es decir, el ciclo sexual se completa con un solo talo que surge de una sola espora (Chang et al., 2004). En aquellas heterotáticas, dos individuos deben aparearse, y se designan como A1 y A2. Los anteridios introducen los núcleos haploides en la oogonia, ya sea por la introducción de la oogonia en el anteridio (anfigina) o por el acercamiento del anteridio a la mitad proximal de la oogonia (paragina) y la unión produce oósporas. La meiosis es gamética y los núcleos somáticos son diploides (Chang et al., 2004).

Los esporangios, zoosporas y clamidosporas son estructuras de reproducción asexual de *P. sojae*. Las clamidosporas son generalmente esféricas y pigmentadas y pueden tener una pared celular gruesa que actúa como una estructura de la supervivencia al igual que las oósporas. En las especies con esporangios caducos, éstos actúan como estructuras de dispersión y se propagan por el viento o el agua. En el caso de *P. sojae*, los esporangios son no-caducos, no se dependen, pero liberan zoosporas (Hartman et al. 1999, Fry et al. 2010).

#### 2.4.4 Biología

De acuerdo a Dorrance et al. (2007), *P. sojae* es un Oomicete, pariente cercano de las algas doradas, del reino Stramenopila (o Straminipila). Este grupo de organismos tiene la capacidad de producir esporas móviles en agua

(zoosporas), con flagelos tubulares. La temperatura óptima para el crecimiento es de 25 a 28 °C para la mayoría de los aislados.

Los esporangios, producen zoosporas o esporas flageladas en forma de limón, de paredes delgadas, que no se forman en el cultivo de agar, pero pueden ser inducidos con repetidos lavados de los cultivos (Schmitthenner et al. 1994b, Dorrance et al. 2007). Una vez formado, el esporangio tiene una papila poco visible, por lo que se describe como no papilado. Los esporangios tienen pedicelos largos y son no caducos, no se caen ni desprenden del micelio principal. Los esporangios son de aproximadamente 40 µm de largo por 28 µm de ancho. A partir del esporangio vacío, otro esporangio se desarrollará con un patrón anidado e interno. Las zoosporas nadan hacia la raíz de la plántula de soja, se enquistan en su superficie, y germinan emitiendo un único tubo germinal que penetra en la pared celular de la raíz.

#### 2.4.5 Clasificación y morfología de *Phytophthora sojae*

Si bien *P. sojae* no es un hongo, se asemeja a los mismos por su morfología ya que presenta hifas o micelio. Las diferencias entre *Phytophthora* y el resto de los Oomicetes con los verdaderos hongos están dadas por varias características fisiológicas que los separan en diferentes reinos. Los Oomicetes, como grupo, se asocian al hábitat acuático ya que producen esporas nadadoras (zoosporas) con flagelos tubulares. Su pared celular se compone de glucano y celulosa, y su micelio es cenocítico (aseptado o sin paredes transversales). En cambio, los hongos tienen quitina en su pared, y tienen tabiques o septas. En su etapa vegetativa el micelio es diploide, en oposición a la haploidía de los hongos (Waterhouse 1963, Erwin 1983).

Las oósporas (esporas sexuales, de paredes lisas y gruesas) tienen 19-38 µm de diámetro y se forman en el tejido infectado (Erwin et al. 1996, Hartman et al. 1999). Su germinación puede ser directa produciendo hifas o indirecta, produciendo esporangios con gran número de zoosporas (Dorrance et al., 2007, Figura No. 2). *P. sojae*, tiene esporangios asexuales, no papilados, ovoides, de paredes finas, que van desde 23 a 88 por 16 a 52 µm (Erwin et al., 1996). Tiene oogonias globosas de más de 30 µm de diámetro, que pueden llegar a alcanzar los 45 µm. Las clamidosporas, esporas asexuales, de paredes gruesas, no se forman fácilmente y su temperatura óptima de crecimiento es de 20-25 °C.

A partir de 1876, año en que Heinrich Anton de Bary (Matta, 2010) describe *P. infestans*, se comienzan a describir otras especies. Es así que, en 1931, Drechsler describe por primera vez *P. megasperma*. Waterhouse (1963),

propuso una clave para clasificar especies que dividen al género en seis grupos. *P. sojae*, en ese momento sinónimo de *P. megasperma* var. *sojae*, fue incluida en el grupo V de Waterhouse (1963).

Actualmente, la identificación de especies se ve facilitada por la técnica “in vitro” PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), que imita la habilidad natural de la célula de duplicar el ADN. Es una técnica para hacer múltiples copias de un segmento de ADN. Utiliza ciclos de desnaturalización, apareamiento con cebadores y extensión por medio de la enzima ADN polimerasa, termo resistente, y es muy precisa. Una vez que se obtiene la secuencia de ADN, se la contrasta en una base de datos, buscando la similitud con especies ya descritas (González s.f., Mullis et al. 1986).

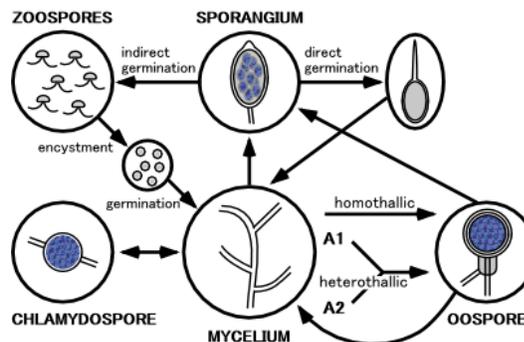


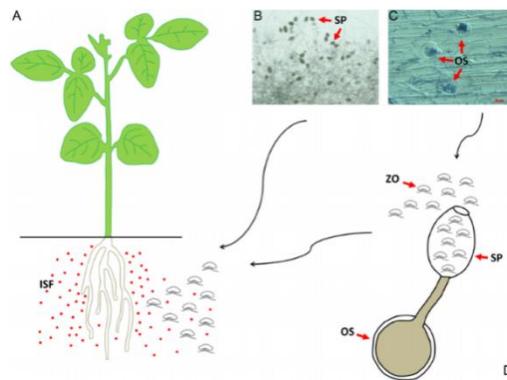
Figura No. 2. Ciclo reproductivo de *Phytophthora* spp., con sus diferentes tipos de esporas sexuales y asexuales

Fuente: Wikipedia (2016).

#### 2.4.6 Descripción de la infección y síntomas

Erwin (1983) plantea que *P. sojae* es un patógeno vegetal necrótrofo (mata el tejido y luego lo asimila), que sobrevive como oóspora en restos vegetales y en el suelo. Hoy en día, *P. sojae* es considerado un patógeno hemibiotrofo, actúa como biótrofo en los primeros estadios de la infección y luego se convierte a necrótrofo (Gijzen et al., 2009). Por su parte, las oósporas pueden permanecer durante algunos años en estado latente, soportan la congelación y largos períodos de temperaturas frías. Tienen latencia endógena y su germinación no es sincrónica y puede continuar durante 30 días o más, incluso cuando las condiciones le son muy favorables (alta humedad y temperaturas de 25 a 30 °C) y en suelos arcillosos, fuertemente compactados y pesados.

La germinación de la oóspora puede ser directa (funcionando como conidios) o indirecta mediante la producción de esporangios (Erwin 1983, 1996). Su formación y germinación se da con temperaturas entre 25 a 30 °C. El tubo germinativo produce, un esporangio o micelio, cuando las oósporas germinan y su pared interna es absorbida. Los esporangios, estructuras asexuales de *P. sojae* formadas en los tejidos vegetales infectados, son capaces de germinar directamente, actuando como conidios, o indirectamente, liberando zoosporas (Hartman et al., 1999). En los suelos saturados y mal drenados, las oósporas germinan para formar el micelio, que luego producirá esporangios y zoosporas (Grau et al., 2004, Figura No. 3). Las zoosporas, esporas asexuadas, carecen de pared celular, son móviles, gracias a que presentan dos tipos de flagelos (pincel y látigo). Pueden nadar cortas distancias en superficies inundadas o a través de los poros del suelo, pero son principalmente diseminadas por el movimiento del agua del suelo (Hartman et al., 1999). Las mismas son liberadas por el esporangio, y se consideran el propágalo primario de infección de *P. sojae*. Éstas son atraídas por las isoflavonas, exudados de las raíces de la soja (Figura No. 3, Gijzen et al., 2009). Una vez que alcanzan la raíz de plantas de soja susceptible, pierden sus flagelos, se enquistan y germinan (Figura No. 3). Una vez dentro de la corteza de la raíz, colonizan el tejido intercelular de la misma. Las hifas invaden el córtex y penetran los tejidos vasculares en el eje de la raíz y tallo. Dentro de estas lesiones, *P. sojae*, realiza su ciclo sexual, formando oósporas (homotáticas o auto fértiles) que, una vez muerta la planta quedan en la tierra (Figura No. 3, Morris et al. 1992, 1998, Grau et al. 2004, Hua et al. 2015).



(isf: isoflavonas, os: oóspora, sp: esporangio, zo: zoospora).

Figura No. 3. Formación de esporas de *Phytophthora sojae* y la atracción de zoosporas a raíces de soja

Fuente: Hua et al. (2015).

La infección por *P. sojae* pueden ocurrir durante todo el ciclo de crecimiento del cultivo. Cuando la infección se da durante la implantación, causando “damping off” en pre y pos-emergencia, se debe realizar resiembra de los lugares afectados, con semilla tratada con funguicida (Dorrance et al., 2007). La enfermedad llamada “damping off” es causada por un complejo de patógenos, uno de los cuales es *P. sojae*. El “damping off” se da específicamente en la etapa de semilla a plántula, luego una vez que las plantas tienen un sistema radicular desarrollado y hojas maduras, son capaces de resistir mejor a la infección. La enfermedad se da en condiciones de suelo húmedo y cálido, y una temperatura ambiente entre 25 a 30 °C. Las lesiones pueden comenzar en cualquier parte de la raíz, hipocótilo y cotiledón. Los síntomas en plántulas se visualizan como una pudrición blanda de color marrón claro y el avance de la colonización del patógeno provoca su muerte y son indistinguibles de los causados por *Pythium* spp. (Dorrance et al. 2007, Dorrance et al. 2008, Stewart 2011).

En planta adulta *P. sojae* causa la enfermedad denominada podredumbre de raíz y base del tallo (PRT). El síntoma característico de la enfermedad es una lesión marrón chocolate que se desarrolla desde la base de la planta hasta 4 o 5 nudos en el tallo. Esta lesión rodea y se extiende por el tallo, y finalmente provoca la muerte de la planta (Schmitthenner, 1985). A veces, la lesión sólo se da en un lado de la planta, pero es continúa desde el cuello de la planta hasta la parte aérea de la misma. Las hojas permanecen adheridas a la planta por los pedúnculos (Dorrance et al. 2007, Dorrance et al. 2008, Stewart 2011). Los síntomas de PRT dependen del nivel de resistencia del cultivar, y pueden variar desde una infección asintomática a plantas enanas, cloróticas y marchitas (Dorrance et al., 2007). PRT es considerada monocíclica, tiene solo un ciclo efectivo de infección por estación de crecimiento. Las plantas afectadas aparecen de manera aleatoria en el cultivo, encontrando en el campo plantas con síntomas intercaladas con otras sanas, así como también amplias áreas afectadas en zonas bajas con suelos mal drenados (Dorrance et al., 2007, Figura No. 4).

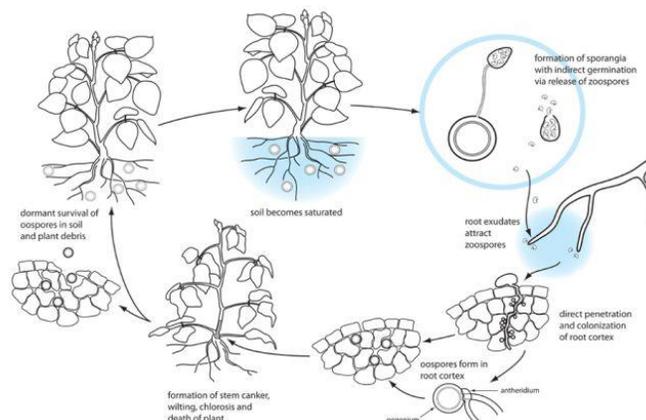


Figura No. 4. Ciclo de la podredumbre de raíz y tallo de soja causado por *Phytophthora sojae*

Fuente: Dorrance et al. (2007).

#### 2.4.7 Condiciones ambientales predisponentes

Las condiciones ambientales favorables al desarrollo de la enfermedad (germinación de esporas y producción de esporas asexuales) son temperaturas entre 25 y 30 °C, suelos pesados, arcillosos, cálidos, mal drenados, compactados, factibles de ser saturados continua o esporádicamente (Schmitthenner 1985, Stewart 2011).

#### 2.4.8 Manejo y medidas preventivas para la enfermedad

Según lo que plantean Vallone et al. (2002) se debería:

- utilizar cultivares resistentes y/o tolerantes a PRT
- elegir suelos bien drenados para la siembra
- realizar rotaciones de cultivo con gramíneas
- tratar las semillas con fungicidas específicos (metalaxil o propamocarb) en los campos donde se ha detectado la enfermedad.

#### 2.4.9 Pérdidas producidas por la enfermedad en el mundo y en la región

En Estados Unidos, es considerada la segunda enfermedad más importante en pérdida de rendimiento. Al comparar diferentes iso-líneas, resistentes y susceptibles de soja, las segundas mostraron en promedio, 65 a 93 % menos de rendimiento comparadas con las primeras, en campos con alta presión de inóculo de *P. sojae* (Wilcox y Martin, 1998). Según lo que plantean Gijzen et al. (2009), las pérdidas anuales resultantes de PRT en Norte América son de aproximadamente 10.000.000 Tn. de soja y se han estimado pérdidas de 1-2 billones de dólares a nivel mundial.

En América del Sur, más concretamente en Argentina, se han reportado incidencias del 60 y 70 % en Pergamino y Marcos Juárez, respectivamente (Vallone et al., 1999). En Brasil, se reportó por primera vez, en la zafra 1994-1995, en Río Grande del Sur (Costamilan et al., 1996).

## 2.5 INTERACCIÓN HUÉSPED-PATÓGENO

Existen patógenos restringidos a una única especie vegetal, o a una determinada variedad dentro de la especie, otros a un género de plantas, y otros a una gran variedad huéspedes perteneciente incluso a varias familias de plantas (Agrios, 2017). Agrios (2017), cita el ejemplo de *Puccinia graminis*, que ataca el tallo en los cereales, enfermedad conocida como roya del tallo. Dentro de *P. graminis* existen formas especiales que solo atacan al trigo, a la cebada o a la avena. A su vez, dentro de estas formas especiales existen variantes que atacan a algunas variedades del huésped y no a otras, y se las conoce bajo el nombre de razas o patotipos.

### 2.5.1 Interacción y variabilidad patogénica

Según Agrios (2017), los genes de resistencia que tienen algunas variedades de plantas hacen que reaccionen de forma distinta a las diversas razas del patógeno. Existe una relación entre los genes de resistencia de las variedades hipotéticas A, B, etc. y distintas razas del patógeno (Cuadro No. 2). La resistencia o susceptibilidad contra un patógeno, se transmite de generación en generación, es decir: está genéticamente controlada. De igual forma se comporta el patógeno en cuanto a su virulencia y avirulencia.

Cuadro No. 2. Interacciones entre variedades de plantas con distintos genes de resistencia y razas del patógeno

		Razas del patógeno	
		1	2
Variedades de la planta	A	-	+
	B	+	-

		Razas del patógeno			
		1	2	3	4
Variedades de la planta	A	-	+	+	+
	B	+	-	-	+
	C	+	-	-	+
	D	+	-	+	-

Posibles reacciones de dos (izquierda) y cuatro (derecha) variedades de una planta a dos (izquierda) y cuatro (derecha) razas de un patógeno. El signo “+” indica que la planta es susceptible (la reacción es compatible y se produce infección); el signo “-” indica que la variedad es resistente (la reacción es incompatible y no se produce infección).

Fuente: Agrios (2017).

El concepto de gen por gen fue definido por Flor en el año 1956 - para el lino y la roya del lino - de la siguiente manera: por cada gen que confiere resistencia en el hospedante, hay un gen específico y complementario en el patógeno, que le confiere avirulencia y viceversa. Cuando una variedad es resistente a un patógeno como resultado de 1, 2 o 3 genes de resistencia,

también el patógeno tendrá 1, 2 o 3 genes de avirulencia. Cada gen en el hospedante puede detectarse o identificarse solo por su gen complementario en el patógeno, y viceversa. Esta interacción gen a gen entre el patógeno y su huésped fue postulada por Flor (1971, Cuadro No. 3).

Cuadro No. 3. Comprobación cuadrática de las combinaciones genéticas y tipos de reacción a las enfermedades en una relación hospedante - patógeno basada en la teoría de gen por gen, para un solo gen

Genes de virulencia o avirulencia en el patógeno	Genes de resistencia o susceptibilidad en la planta	
	R, dominante (resistente)	r, recesivo (susceptible)
A, dominante (avirulento)	AR (-)	Ar (+)
a, recesivo (virulento)	aR (+)	ar (+)

El signo “-” indica que la reacción es incompatible (resistente) y, por tanto, no se produce infección. El signo “+” indica que la reacción es compatible (susceptible) y, por tanto, se produce infección.

Fuente: Agrios (2017).

Los genes de resistencia en el hospedante generalmente son dominantes (R) y los genes que confieren susceptibilidad, son recesivos (r). A la inversa, en el patógeno los genes dominantes son los que determinan su avirulencia (A) y los que codifican para virulencia son los recesivos (a). La combinación *AR* es la única resistente, ya que el hospedante presenta el gen de resistencia *R*, y el patógeno carece de ese gen de virulencia *a*. En contraposición en todas las demás combinaciones, la planta hospedante va a ser infectada y se va a producir la enfermedad (Agrios, 2017).

Existen posibles combinaciones genéticas y tipos de reacción a la enfermedad para dos genes de resistencia y de virulencia en los loci correspondientes (Cuadro No. 4). Agrios (2017), plantea que las plantas susceptibles ( $r_1r_2$ ) carentes de genes de resistencia, son atacadas por todas las razas del patógeno. Plantea, además, que pueden ser atacadas por aquellas que no tienen genes de virulencia específicos ( $A_1A_2$ ). El mismo autor afirma,

que aquellas razas del patógeno o individuos con genes de virulencia ( $a_1a_2$ ) específicos para cada gen de resistencia del hospedante ( $R_1R_2$ ), podrán infectar a las plantas que tengan cualquier combinación de estos genes ( $R_1R_2$ ,  $R_1r_2$ ,  $r_1R_2$ ).

Cuadro No. 4. Interacción complementaria entre dos genes de resistencia del hospedante y dos genes de virulencia correspondientes del patógeno y sus tipos de reacción

Genes de virulencia (a) o avirulencia (A) en el patógeno	Genes de resistencia (R) o susceptibilidad (r) en la planta			
	$R_1 R_2$	$R_1 r_2$	$r_1 R_2$	$r_1 r_2$
	$A_1 A_2$	-	-	-
$A_1 a_2$	-	-	+	+
$a_1 A_2$	-	+	-	+
$a_1 a_2$	+	+	+	+

Fuente: Agrios (2017).

La interacción entre el patógeno y el hospedero en el sistema *P. sojae* – soja, sigue el concepto de gen a gen postulado por Flor (1971). La expresión de resistencia (incompatibilidad) requiere una interacción entre un gen de resistencia de la planta de soja (*Rps*) y un gen de avirulencia en *P. sojae*. Por consiguiente, implica una resistencia inducida. El gen de avirulencia del patógeno codifica un elicitor que, directa o indirectamente, interactúa con el producto del gen de resistencia de la planta promoviendo una cascada de reacciones que determinan la reacción de resistencia o hipersensibilidad (Parker, 2009). La susceptibilidad (compatibilidad) por otro lado, es considerada pasiva debida a la ausencia de genes de resistencia y/o avirulencia (Misaghi, 1982).

Se conocen diecisiete genes de *Rps* que confieren resistencia a PRT (Grau et al. 2004, Sun et al. 2010, Lin et al. 2013, Zhang et al. 2013). Sin embargo, hoy en día se piensa que probablemente existan otros genes menores en las plantas involucrados en la resistencia de ‘gen a gen’, además del gen *Rps* por sí mismo (Parker, 2009).

La variabilidad en *P. sojae* ha sido tradicionalmente evaluada a través de un test de virulencia, usando un set de diferenciales compuestas por siete a catorce líneas cada una de las cuales posee un gen de resistencia (*Rps*) a *P.*

*sojae* y un susceptible universal. Estos son utilizados para caracterizar a las razas de *P. sojae* o patotipos (Flor 1971, Dorrance et al. 2004). Cada raza de *P. sojae* descrita fue identificada en base a la compatibilidad (susceptibilidad) e incompatibilidad (resistencia) en estas líneas diferenciales (Dorrance et al. 2003, 2004), y a cada una se le adjudicó un número, raza 1 a la 55. En la medida que nuevas combinaciones o patotipos de genes de virulencia iban apareciendo en el patógeno (Schmitthenner et al. 1994b, Yang et al. 1996, Abney et al. 1997, Ryley et al. 1998, Leitz et al. 2000, Dorrance et al. 2003, Jackson et al. 2004, Malvick et al. 2004) el antiguo sistema de clasificación fue dejado de lado (Dorrance et al., 2005). Potencialmente puede haber  $2^{17}$  ( $2^N$  donde N = no. genes *Rps*) combinaciones de virulencia o razas posibles. Esto ha llevado a los investigadores a describir los patotipos directamente por la fórmula de virulencia, indicando el gen *Rps* al cual el patotipo es capaz de infectar, dejando así de lado el sistema de adjudicación de un número para cada raza. Actualmente, hay más de 200 patotipos conocidos (Dorrance et al., 2003) lo que sugiere una alta variación genética con respecto a la virulencia de las poblaciones naturales.

### 2.5.2 Genes y tipos de resistencia en huésped

Existen diferentes tipos de resistencia de las plantas, en general a los patógenos, según Agrios (2017), se encuentran las siguientes resistencias:

- Verdadera
  - Horizontal
  - Vertical
- Aparente

Resistencia verdadera: según Agrios (2017), es aquella que es controlada genéticamente por la presencia de uno o varios genes que le otorgan resistencia a la planta contra el ataque de un patógeno. La incompatibilidad de la interacción hospedante – patógeno es debida a la ausencia de reconocimiento químico entre ambos, o por mecanismos de defensa de la planta, en respuesta al patógeno y sus consecuencias.

Esta resistencia puede ser horizontal o vertical.

Resistencia Horizontal (R.H.): también conocida como resistencia no específica, general, cuantitativa, de planta adulta, de campo o durable. Se considera que todas las plantas tienen cierto nivel de resistencia no específica, no siempre es la misma, la que es eficaz contra cada uno de sus patógenos (Agrios, 2017). Es también llamada resistencia poligénica o de genes múltiples,

por ser controlada por muchos genes (hasta cientos). Éstos deben actuar en conjunto para poder ser eficaces en la neutralización del efecto del patógeno y tener una mayor función en la R.H. total de la planta (resistencia de genes menores). Los genes que otorgan la R.H. controlan las diversas etapas de los procesos fisiológicos y constituyen los mecanismos de defensa de la planta. Debido a que las diferencias en R.H. son pequeñas e insuficientes, no es posible distinguir variedades con base en su R.H. (resistencia no diferencial). Las condiciones ambientales afectan y pueden hacer variar a la R.H. Ésta, retarda el desarrollo de la infección en la planta, y así, retrasa la propagación de la enfermedad y el desarrollo de epifitias en el campo, pero no evita que las plantas sean infectadas (Agrios, 2017).

Resistencia Vertical (R.V.): también es conocida como resistencia específica, cualitativa o diferencial. Es aquella en la cual una variedad vegetal puede ser resistente a alguna raza de un patógeno, lo que no impide que sea susceptible a otra raza del mismo patógeno (Agrios, 2017). Este tipo de resistencia en las plantas permite diferenciar claramente entre las razas de un patógeno, ya que es efectiva contra ciertas razas específicas del mismo e ineficaz contra otras.

A diferencia de la R.H., la R.V., es controlada por uno o pocos genes, razón por la cual se la denomina resistencia de genes mayores, mono-génica u oligo-génica. Estos genes cumplen una función importante en la expresión de la R.V., debido a que son los responsables de controlar una etapa importante de la interacción entre el patógeno y el hospedero (planta). Cuando la R.V. está presente, hay incompatibilidad entre el hospedero y el patógeno. El hospedero desarrolla en respuesta una reacción de hipersensibilidad que impide la multiplicación y establecimiento del patógeno en el hospedero. En conclusión, la R.V. limita el inóculo inicial y así se inhibe el desarrollo de las epifitias (Agrios, 2017).

Resistencia aparente: los cultivos pueden presentar casi todos los años y en diferentes áreas, enfermedades localizadas o de amplia distribución, pero algunas plantas pueden permanecer libres de infección. Agrios (2017), expresa que algunas plantas susceptibles presentan una resistencia aparente, esto es el resultado de procesos “de escape o tolerancia” a la enfermedad. El escape se da siempre que las plantas genéticamente susceptibles no sean infectadas, dado que no coincidan en tiempo y espacio los tres factores del triángulo de la enfermedad: hospedante susceptible, patógeno virulento y ambiente favorable. Por otro lado, hay algunas plantas que, aun siendo infectadas por un patógeno, tienen la capacidad de no afectar su rendimiento.

En el caso específico del sistema *P. sojae* – soja, los tipos de resistencia son:

1. resistencia vertical, mediada por gen mayor o *Rps*,
2. resistencia horizontal, multi-génica.
3. resistencia aparente.

1) Resistencia vertical. Se han identificado 17 genes *Rps* y la mayoría han sido mapeados en el genoma de la soja. Se han utilizado a nivel comercial sólo seis genes, *Rps1a*, *Rps1b*, *Rps1c*, *Rps1k*, *Rps 3a* y *Rps 6*. Por otra parte, el *Rps 8*, se encuentra en proceso de desarrollo comercial. Este tipo de resistencia se expresa como una respuesta hipersensible en ensayos de invernáculo a través de la inoculación en la zona del hipocótilo de las plántulas. Sin embargo, sólo es eficaz contra algunas razas (Agrios, 2017).

2) Resistencia horizontal. Esta clase de resistencia es heredada cuantitativamente y se manifiesta principalmente como una reducción de la colonización de las raíces. Esta resistencia se expresa en las plantas después que los cotiledones y las primeras hojas verdaderas son visibles, a diferencia de la resistencia mediada por gen *Rps* que se expresa en la semilla (Dorrance et al., 2007). La resistencia horizontal se manifiesta como una colonización más reducida y una más lenta expansión de la lesión, y es heredada como una característica multi-génica. En la medida que hay más genes involucrados en la expresión de esta resistencia y los ensayos requieren más tiempo, los cultivares con resistencia horizontal son más difíciles de identificar, lo cual dificulta la selección en los programas de mejoramiento.

3) Resistencia aparente. Las plantas no son infectadas ya que no se dio un ambiente favorable.

Una combinación del gen *Rps* de resistencia y RH ha generado la mejor protección, especialmente en las regiones donde los suelos albergan un gran número de razas (Dorrance et al., 2007).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 METODOLOGÍA

La metodología utilizada para llevar a cabo el estudio es la que habitualmente se emplea en estos ensayos. Se tiene en cuenta que la muestra debe tener el tamaño suficiente como para minimizar las variaciones debidas al azar o a algún evento cuyo valor escape notoriamente de los esperados a encontrar en el muestreo.

La ejecución de la tarea siguió los pasos que a continuación se describen.

##### 3.1.1 Colección del patógeno

Se utilizaron 14 aislados colectados durante las zafras 2013/2014 y 2014/2015 que habían sido guardados en trozos de V8 diluido (40 ml de jugo de vegetales V8Campbell, 0.6 g CaCO<sub>3</sub>, 0.2 g extracto de levadura, 1 g sucrosa, 20 g agar, 1000 ml de dH<sub>2</sub>O) en agua estéril a temperatura ambiente (Schmitthenner y Bhat, 1994a). Los aislados fueron obtenidos de plantas con síntoma, entre los estadios de dos nudos a plena floración, de diferentes localidades y variedades (Cuadro No. 5).

Las mismas se lavaron y se dejaron debajo de agua corriendo por 12-16 horas. Luego se cortó y esterilizó la lesión con hipoclorito al 1%, y a continuación con alcohol al 70% y se enjuagó con agua oxigenada estéril. Se cortó una pequeña porción entre la zona afectada y la parte sana y se colocó debajo del mencionado medio de cultivo V8 hifa (French y Herbert, 1980) y guardados en trozos de medio de cultivo V8 diluido en agua estéril a temperatura ambiente (Schmitthenner y Bhat, 1994a).

Se considera que el número de aislados satisface los requerimientos como para que el tratamiento de las muestras cumpla con el rigor estadístico necesario.

Cuadro No. 5. Origen de los aislados de *P. sojae* utilizados

Código	Zafra	Localidad	Departamento	Variedad
Ps01	2013/2014	Semillero	Colonia	DM 7.0i
Ps02	2013/2014	Semillero	Colonia	DM 7.0i

Ps03	2013/2014	Semillero	Colonia	DM 7.0i
Ps04	2013/2014	Semillero	Colonia	A 5009 RG
Ps06	2013/2014	Manantiales	Colonia	A 5509 RG
Ps07	2013/2014	Manantiales	Colonia	A 5509 RG
Ps09	2013/2014	San Pedro	Colonia	DM 6.2i
Ps10,1	2014/2015	Tarariras	Colonia	Cardinal 590
Ps10,3	2014/2015	Tarariras	Colonia	Cardinal 590
Ps11	2014/2015	Semillero	Colonia	DM 5958 IPRO
Ps12,1	2014/2015	Trinidad	Flores	-
Ps12,3	2014/2015	Trinidad	Flores	-
Ps13	2014/2015	-	Colonia	-
Ps13.2	2014/2015	-	Colonia	-

-: dato no disponible.

La Lic. Biol. (PhD.) Silvina Stewart (INIA) recogió muestras de tejido de los diferentes cultivos afectados, de donde se aisló al patógeno, cultivó y repicó para esta tesis.

### 3.1.2 Obtención y multiplicación del inóculo

Este procedimiento se realizó en cámara de flujo laminar, utilizando bisturí y ansas estériles. Luego se rotularon las placas y se incubaron a 20 °C (Figura No. 5).

Luego de 7-10 días, se procedió al repique del patógeno a nuevas placas de Petri en medio V8 diluido. Este procedimiento se realizó cortando trozos de agar de la periferia de la placa y trasladándolos a una nueva placa para repicar el patógeno. Las placas se incubaron igual que en el procedimiento anterior (Figura No. 5).

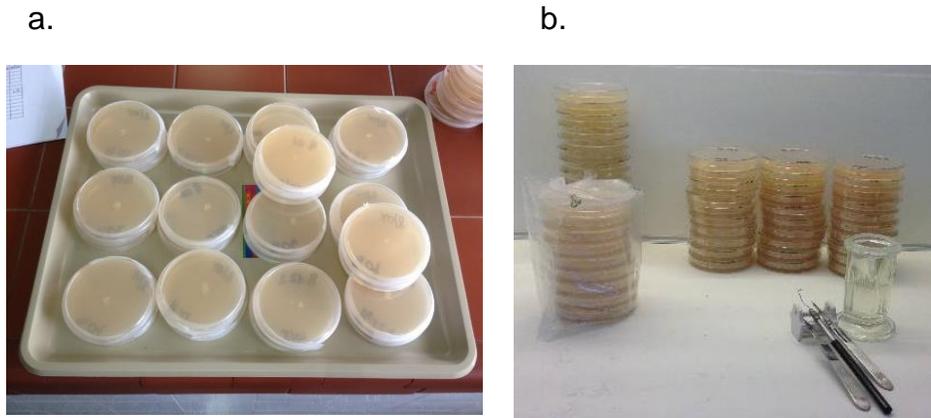


Figura No. 5. Repique de aislados (5a. placas de Petri luego de repicar los aislados. 5b. Materiales utilizados para repicar los aislados)

### 3.1.3 Siembra de diferenciales de soja

Se sembraron 14 diferenciales en cada bandeja, representando el set completo. Cada línea o diferencial de soja posee un gen/alelo de resistencia o *Rps*, salvo el cultivar Williams PI 548631 que no posee gen de resistencia y por lo tanto es utilizado como susceptible universal (Cuadro No. 6).

Para la siembra de los diferenciales de soja se procedió de la siguiente manera:

1. Se hizo una mezcla de proporciones 5:1:1 de volumen de tierra: vermiculita: turba
2. Se rellenaron bandejas de 45 por 28 y 7 cm de profundidad, cada una con 8 orificios en la base
3. Se homogenizó la superficie de la tierra
4. Se marcaron catorce surcos, uno por cada diferencial de soja, en cada bandeja
5. Se numeraron las bandejas y se les colocó una lengüeta identificadora en el primer surco
6. Se colocaron doce semillas por surco de cada diferencial, por bandeja (Figura No. 6)
7. Se cubrió la superficie de la bandeja con la mezcla de sustrato
8. Se colocaron las bandejas en invernáculo a  $28\text{ °C} \pm 8\text{ °C}$
9. Se regó a diario con agua lluvia



Figura No. 6. Siembra de 14 diferenciales de soja por bandeja

Cuadro No. 6. Set diferencial para *P. sojae* con sus respectivos genes/alelos de resistencia (*Rps*)

No.	CVS	GEN
1	Williams PI 548631	-
2	Harlon PI 548571	<i>Rps 1-a</i>
3	L77-1863 PI 547842	<i>Rps 1-b</i>
4	Williams 79 PI 518670	<i>Rps1-c</i>
5	Wuan PI 103091	<i>Rps 1-d</i>
6	Williams 82	<i>Rps 1-k</i>
7	L82-1449 PI 547788	<i>Rps 2</i>
8	L83-570 PI 547862	<i>Rps 3-a</i>
9	L91-8347 PI 591509	<i>Rps 3-b</i>
10	L92-7857 PI 591510	<i>Rps 3-c</i>
11	L85-2352 PI 547874	<i>Rps 4</i>
12	L85-3059 PI 547876	<i>Rps 5</i>
13	L89-1581 PI 591511	<i>Rps 6</i>
14	L93-3258 PI 591512	<i>Rps 7</i>

### 3.1.4 Inoculación

Diez a doce días post siembra, cuando las plántulas de soja llegaron al estadio de etapa cotiledonar (Vc) (Fehr et al., 1971) y las colonias de *P. sojae* llegaron al borde de la placa, se procedió a realizar la inoculación. Se utilizó la técnica de inyección en hipocótilo (Schmitthenner y Bhat 1994a, Dorrance et al. 2008). Cada bandeja, conteniendo los 14 diferenciales del set fue inoculada con uno de los 14 aislados (Cuadro No. 6). Este procedimiento se repitió dos veces para cada aislado.

Según lo que describe Toledo (2006), durante la etapa cotiledonar (Vc), el hipocótilo se endereza, los cotiledones se despliegan totalmente y en el nudo inmediato superior los bordes de las hojas unifoliadas no se tocan. A partir de aquí el resto de los estados vegetativos se los identifican con el número de nudos. Para este procedimiento se utilizaron los siguientes materiales:

- Marcador permanente
- Guantes descartables
- Jeringas hipodérmicas descartables de 2,5 ml y 20 ml con sus respectivas agujas
- Papel absorbente
- Mechero
- Alcohol 70 %
- Espátula y bisturí
- Bolsas plásticas del tamaño de las bandejas
- Placas de Petri con el patógeno crecido en medio V8 diluido

Se seleccionaron aquellas bandejas con plántulas de sojas parejas y homogéneas, y se procedió a realizar la inoculación. El procedimiento se describe a continuación:

1. Se esterilizaron los instrumentos con alcohol y se los quemó en la llama del mechero
2. Se escribió el nombre del aislado en la bandeja
3. Se cortó el contenido de la placa y se introdujo dentro de la jeringa de 20ml, sin incluir el centro con el pedacito del cultivo original
4. Para macerar el agar se lo hizo pasar de una jeringa de 20ml a otra, repitiendo el procedimiento hasta que el contenido queda con consistencia pastosa
5. Esta pasta se colocó en una jeringa de 2,5 ml con su aguja

6. Con la aguja se procedió a realizar una incisión de tipo ojal en el hipocótilo, sin quebrarlo, y se introduce 0,2 a 0,4 ml de macerado del patógeno (Figura No. 7). Un aislado por bandeja
7. Se completó toda la bandeja con el mismo aislado
8. Se inocularon dos bandejas por aislado (2 repeticiones)
9. Se colocó una bolsa de nylon cubriendo la bandeja, se cierra herméticamente (Figura No. 8)
10. Se repitió el procedimiento para cada aislado, esterilizando los instrumentos entre aislados
11. Las bandejas permanecieron en invernáculo en cámara húmeda durante 16 a 24 horas, mediante la introducción de las mismas en bolsas de nylon.



Figura No. 7. Técnica para inocular



Figura No. 8. Cámara húmeda dentro de la bolsa de nylon

### 3.1.5 Evaluación e indentificación de patotipos

Se realizó la evaluación entre siete a diez días post inoculación. Se hizo un conteo por bandeja y por surco y para calcular la incidencia de plántulas muertas o que mostraron lesiones necróticas expandidas. Un diferencial fue considerado susceptible cuando el 70% de las plántulas o más mostraron esta sintomatología. Se determinan los diferenciales susceptibles y por ende el gen de resistencia para el cual el aislado es virulento (Figura No. 9). Para la designación de la raza (raza 1 y 55) se utilizó la nomenclatura estándar (Grau et al. 2004, Dorrance et al. 2007). Cuando la fórmula de virulencia no coincide con las 55 razas previamente descritas, se designa al patotipo indicando el gen *Rps* al cual es capaz de infectar (Dorrance et al., 2005).



Figura No. 9. Evaluación de los diferenciales

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinaron siete patotipos diferentes de los 14 aislados de *P. sojae* estudiados. Tres de los patotipos encontrados tienen un número de raza asignado en la bibliografía, los demás se designan indicando el gen *Rps* al cual es capaz de infectar (Grau et al. 2004, Dorrance et al. 2005, Dorrance et al. 2007).

El 57 % de los aislados pertenecieron a un único patotipo; *vir* 1b, 3a, 3b, 5 (patotipo sin un número de raza asignada). Los seis aislados restantes pertenecieron, cada uno, a un patotipo diferente. Tres de ellos con nombres de razas conocidos; raza 4, 14 y 25 (Cuadro No. 7). Para la determinación del número de las razas se utilizó la tabla de Bhat y Schmitthenner (1993).

Cuadro No. 7. Patotipos de *P. sojae* determinados para el Sur - Oeste del Uruguay

Patotipo	No. Aislados	Código de aislados	Denominación
<i>vir</i> 1c 7 *	1	Ps02	raza 14
<i>vir</i> 1a 1c 7	1	Ps06	raza 4
<i>vir</i> 1b 3a 3b 5	8	Ps01, Ps03, Ps10.3, Ps11, Ps12.1, Ps12.3, Ps13, Ps13.2	-
<i>vir</i> 1b 1c 1k 2 7	1	Ps07	-
<i>vir</i> 1b 3a 3b 5 7	1	Ps04	-
<i>vir</i> 1a 1b 1k 3a 3b 5	1	Ps10.1	-
<i>vir</i> 1a 1b 1c 1k 7	1	Ps09	raza 25

\* significa que el aislado es compatible con los genes de resistencia *Rps* 1c y 7 de la soja.

Tanto en Argentina como Brasil, los primeros aislados de *P. sojae* encontrados en la década del 90, pertenecieron exclusivamente a la raza 1 (Barreto et al. 1995, Costamilan et al. 1996). A medida que la enfermedad tomó importancia en el cultivo y que se fueron liberando variedades con genes *Rps*, aparecieron nuevos patotipos. Es así que en la zafra 2013-2014 en el sudeste bonaerense se determinaron 12 patotipos distintos en 18 aislados, ninguno de los cuales correspondió a la raza 1 (Soares et al., 2015). En este trabajo, si bien se encontró un patotipo predominante, éste no fue la raza 1, y al igual que en el sudeste bonaerense ninguno de los aislados correspondió a esta raza.

Nueve de los 13 genes de resistencia de la soja estudiados fueron compatibles con al menos un aislado de *P. sojae* (*Rps* 1a, 1b, 1c, 1k, 2, 3a, 3b,

5 y 7) (Figura No. 10). Más del 70 % de los aislados fueron compatibles con los genes *Rps* 1b, 3a, 3b y 5 (Figura No. 10). Contrariamente, los diferenciales de soja que poseen los genes *Rps* 1d, 3c, 4 y 6 mostraron reacciones de resistencia al 100 % de los aislados estudiados.

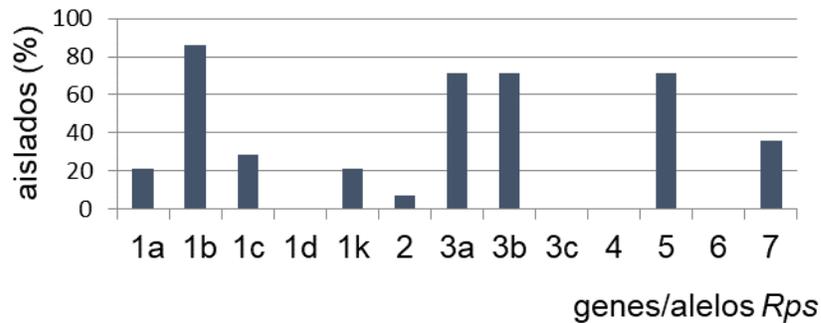


Figura No. 10. Porcentaje de aislados compatibles con los genes de resistencia de la soja (*Rps*)

Los genes *Rps* que se utilizan y están incorporados en las variedades comerciales en la región y en el mundo son *Rps*1a, *Rps*1c y *Rps*1k (Schmitthenner et al. 1994b, Soares et al. 2015). Esto sugiere que, si incorporáramos estos genes de resistencia en el nuestro programa de mejoramiento local, la resistencia sería efectiva para más del 70 % de los patotipos encontrados en este estudio, como lo muestra la Figura No. 10.

Aún más eficiente sería el uso de los genes *Rps*1d, *Rps*3c, *Rps*4, *Rps*6, los cuales fueron efectivos para el 100% de los aislados encontrados en este estudio.

## 5. CONCLUSIONES

A pesar del número limitado de aislados del trabajo, la variabilidad de patotipos encontrada fue mayor a la esperada, para ser patógeno nuevo en el país. En general, cuando la enfermedad aparece por primera vez en una región o país, se encuentra una raza predominante. En E.E.U.U y en Canadá, prevaleció la raza 1 (*vir* 7) hasta la década del 90 (Laviolette y Athow 1981, Anderson y Buzzell 1992, Schmitthenner et al. 1994b). En Argentina y Brasil, los primeros aislados de *P. sojae* encontrados en la década del 90, pertenecieron exclusivamente a la raza 1 (Barreto et al. 1995, Costamilan et al. 1996). En este trabajo, se encontró un patotipo predominante (*vir* 1b 3a 3b 5), pero ninguno de los aislados correspondió a la raza 1.

Si bien la variabilidad encontrada fue grande, se debería hacer un relevamiento de patotipos presentes en todo el territorio nacional por varios años, para estudiar la frecuencia relativa de, *vir* 1b 3a 3b 5. De ser así, se debería seleccionar variedades de soja resistentes a este patotipo en el programa de mejoramiento de soja de INIA. De hecho, el patotipo predominante, se utilizó en el trabajo de investigación de Echeverrigaray et al. (2018), para realizar un screening en los materiales avanzados del programa de mejoramiento de soja de INIA.

## 6. RESUMEN

La podredumbre de raíz y base de tallo causada por *Phytophthora sojae* es una enfermedad que causa mermas importantes en el cultivo de soja en el mundo. El manejo de esta enfermedad en otros países es a través de mejoramiento genético. Se conocen 17 genes/alelos en la soja que otorgan resistencia a esta enfermedad. Para poder seleccionar por resistencia en los programas de mejoramiento genético de soja es necesario conocer la variabilidad del patógeno en el país. *Phytophthora sojae* se detectó por primera vez en Uruguay durante la zafra 2013-2014, en plántulas de soja. Causó la muerte de plántulas en pre y post emergencia conjuntamente con otros patógenos. Más avanzado el ciclo de la soja, se la determinó en plantas adultas, causando la podredumbre de tallo y raíz. Este es el primer estudio que se realiza sobre el patógeno en Uruguay, con el objetivo de determinar las razas/patotipos de *P. sojae*. Para ello se utilizó la técnica de inyección en hipocótilo, sobre un set de 14 diferenciales de soja. Pasados los siete días luego de la inoculación, se clasificó cada diferencial de soja como resistente o susceptible. De los 14 aislados de *P. sojae* estudiados, se determinaron siete patotipos diferentes. El 57 % de los aislados pertenecieron a un único patotipo (*vir* 1b, 3a, 3b, 5), los seis restantes aislados pertenecieron, cada uno, a un patotipo diferente incluyendo algunas razas conocidas como la raza 4, 14 y 25. Este tipo de estudio se debería realizar todos los años para determinar la frecuencia de los distintos patotipos y también para detectar nuevos patotipos. Esta información sería muy útil para implementar la selección más dirigida de líneas de soja resistentes a los patotipos predominantes en el país en el programa de mejoramiento de soja de INIA.

Palabras clave: Soja; *Phytophthora sojae*; Patotipos; Podredumbre de raíz y tallo.

## 7. SUMMARY

Root and stem base rot caused by *Phytophthora sojae* is a disease that causes significant yield losses in soybean around the world. The management of this disease in other countries is through genetic improvement. There are 17 known genes/alleles in soybean that are involved in the resistance of this disease. To be able to select for resistance in soybean breeding programs, it is necessary to know the variability of the pathogen in the country. *Phytophthora sojae* was detected for the first time in Uruguay during the summer of 2013-2014, in soybean seedlings. It caused the death of seedlings in pre and post emergency together with other pathogens. Later in the soybean cycle, at the adult plant stage, it causes stem and root rot. This is the first study carried out in Uruguay to determine races/pathotypes of *P. sojae*. For this, the hypocotyl injection technique was used on a set of 14 differentials of soybean. Seven days after inoculation, each soybean differential was classified as resistant or susceptible. Of the 14 *P. sojae* isolates studied, seven different pathotypes were determined. 57% of the isolates belonged to a single pathotype (*vir* 1b, 3a, 3b, 5), and the six remaining isolates belonged, each one, to a different pathotype including some known race 4, 14 and 25. This type of study should be carried out every year to determine the frequency of the different pathotypes. Also selection of soybean resistant lines to the predominant pathotypes in the country should be implemented in INIA's soybean breeding program.

Key words: Soybean; *Phytophthora sojae*; Pathotypes; Root rot and stem.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Abney, T. S.; Melgar, J. C.; Richards, T. L.; Scott, D. H.; Grogan, J.; Young, J. 1997. New races of *Phytophthora sojae* with *Rps1-d* virulence. *Plant Disease*. 81(6):653-655.
2. Agrios, G. 2017. *Fitopatología*. 2a. ed. México, Limusa. 856 p.
3. Alexopoulos, C. J.; Mins, C. W.; Blackwell, M. 1996. *Introductory mycology*. New York, Wiley. pp. 717-723.
4. Anderson, T. R.; Buzzell, R. I. 1992. Diversity and frequency of races of *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* in soybean fields in Essex County, Ontario, 1990-1989. *Plant Disease*. 76:587-589.
5. Baigorri, H. 2010. Requerimientos nutricionales del cultivo de soja. (en línea). Marcos Juárez, INTA. s.p. Consultado 20 mar. 2017. Disponible en <https://www.engormix.com/agricultura/articulos/requerimientos-nutricionales-cultivo-soja-t29931.htm>
6. Barreto, D.; Stegman De Gurfinkel, B.; Fortugno, C. 1995. Races of *Phytophthora sojae* in Argentina and reaction of soybean cultivars. *Plant Disease*. 79:599-600.
7. Bernard, R. L. 1972. Two genes affecting stem termination in soybeans. *Crop Science*. 12(2):235-239.
8. Bhat, R. G.; Schmitthenner, A. F. 1993. Genetic Crosses between Physiologic Races of *Phytophthora sojae*. *Experimental Mycology*. 17 (2):122-129.
9. Blackman, S. A.; Obendorf, R. L.; Leopold, A. C. 1992. Maturation proteins and sugars in desiccation tolerance of developing soybean seeds. (en línea). *Plant Physiology*. 100(1):225-230. Consultado 10 jun. 2017. Disponible en <http://www.plantphysiol.org/content/100/1/225.long>
10. Blasina y Asociados. 2015a. El nuevo dilema del agro uruguayo: soja o ganadería. (en línea). *El Observador*, Montevideo, UY, sept. 4:s.p. Consultado 10 may. 2016. Disponible en

<https://www.elobservador.com.uy/nota/el-nuevo-dilema-del-agro-uruguayo-soja-o-ganaderia-201594500>

11. \_\_\_\_\_. 2015b. Por primera vez en este siglo caerá el área de soja. (en línea). El Observador, Montevideo, UY, jul. 31:s.p. Consultado 15 jun. 2019. Disponible en <https://www.elobservador.com.uy/nota/por-primera-vez-en-este-siglo-caera-el-area-de-soja-2015731500>
12. Blum, A.; Narbondo, I.; Oyhantcabal, G. 2008. ¿Dónde nos lleva el camino de la soja? Sojización a la uruguay: principales impactos socio ambientales. (en línea). Montevideo, RAP-AL Uruguay. 42 p. Consultado 10 may. 2016. Disponible en <http://www.biodiversidadla.org/Documentos/Donde-nos-lleva-el-camino-de-la-soja-Sojizacion-a-la-uruguay-principales-impactos-socioambientales>
13. Bodrero, M. L.; Morandi, E. N.; Martignone, R. A.; Baigorri, H. E. J.; Andrade, F. H.; Meira, S.; Guevara, E. 1997. Ecofisiología del cultivo. In: Giorda, L. M.; Baigorri, H. E. J. eds. El cultivo de la soja en Argentina. Buenos Aires, INTA. pp. 29-50.
14. \_\_\_\_\_. 2003. Algunos factores genéticos y ambientales que influyen sobre el rendimiento de la soja. (en línea). In: Jornada Nacional de Soja (2003, Colonia). Trabajos presentados. Montevideo, INIA. pp 5-14 (Actividades de Difusión no. 325). Consultado 10 may. 2016. Disponible en [http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/ad/ad\\_325.pdf](http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/ad/ad_325.pdf)
15. Bureau de la Biosécurité Végétale. 1996. La biologie du *Glycine max.* (L.) Merr. (soja). Document de biologie. BIO1996-10. (en línea). Ottawa, Gobierno de Canada. s.p. Consultado 10 may. 2016. Disponible en <https://inspection.canada.ca/varietes-vegetales/vegetaux-a-caracteres-nouveaux/demandeurs/directive-94-08/documents-sur-la-biologie/glycine-max-l-fra/1330975306785/1330975382668>
16. Burton, J. W. 1997. Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). Field Crops Research. 53(1-3):171-186.
17. Calzada, J. 2014. La producción mundial de oleaginosas 2014/2015 supera el techo de 500 millones de toneladas. (en línea). s.n.t. s.p.

Consultado 8 feb. 2018. Disponible en  
<http://www.pregonagropecuario.com/cat.php?txt=5405>

18. Casal, P. 2017. Los 10 mayores productores de soja en el mundo. (en línea). LaReserva.com. s.p. Consultado 8 feb. 2018. Disponible en [https://www.lareserva.com/10\\_mayores\\_productores\\_de\\_soja](https://www.lareserva.com/10_mayores_productores_de_soja)
19. Cataldi, A. 2008. Breve guía sobre la soja. (en línea). s.n.t. 8 p. Consultado 15 jun. 2016. Disponible en <https://fisyp.org.ar/article/breve-guia-sobre-la-soja/>
20. Chang, S-T.; Miles, P. G. 2004. Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect, and environmental impact. (en línea). 2nd. ed. Boca Raton, FL, CRC. pp. 78- 87. Consultado 10 abr. 2018. Disponible en <https://books.google.com.uy/books?id=EQjNBQAAQBAJ&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>
21. Costamilan, L. M.; Bonato, E. R.; Urben, A. F.; Matsuoka, K.; Vanetti, A. 1996. Ocorrência de *Phytophthora sojae* no Brasil. Fitopatología Brasileira. 21(3):340-395.
22. Cregan, P. B.; Hartwig, E. E. 1984. Characterization of flowering response to photoperiod in diverse soybean genotypes. Crop Science. 24(4):659-662.
23. Dorrance, A. E.; McClure, S. A.; St. Martin, S. K. 2003. Effect of partial resistance on *Phytophthora* stem rot incidence and yield of soybean in Ohio. Plant Disease. 87(3):308.
24. \_\_\_\_\_; Jia, H.; Abney, T. S. 2004. Evaluation of soybean differentials for their interaction with *Phytophthora sojae*. (en línea). Plant Health Progress. 5(1):207-209. Consultado 29 mar. 2017. Disponible en doi: 10.1094/PHP-2004-0309-01-RS.
25. \_\_\_\_\_; Berry, S. A.; Abney, T. S.; Anderson, T. 2005. Isolation, maintenance and evaluation of host resistance to *Phytophthora sojae* and *Pythium* spp. (en línea). Plant Health Progress. 5(1) s.p. Consultado 29 mar. 2017. Disponible en doi: 10.1094/PHP-2008-0118-01-DG.
26. \_\_\_\_\_; Mills, D.; Robertson, A. E.; Draper, M. A.; Giesler, L.; Tenuta, A. 2007. *Phytophthora* root and stem rot of soybean. (en línea).

The Plant Health Instructor. 86:1-10. Consultado 10 mar. 2017.  
Disponble en  
[https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/oomycete/pdlessons/  
Pages/PhytophthoraSojae.aspx](https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/oomycete/pdlessons/Pages/PhytophthoraSojae.aspx)

27. \_\_\_\_\_.; Berry, S. A.; Anderson, T. R.; Meharg, C. 2008. Isolation, storage, pathotype characterization, and evaluation of resistance for *Phytophthora sojae* in soybean. (en línea). Plant Health Progress. 9(1)10. Consultado 20 mar. 2017. Disponible en <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHP-2008-0118-01-DG>
28. Echeverrigaray, J. B.; Martino, A.; Verdier, F. 2018. Caracterización de líneas del programa de mejoramiento de soja para *Phytophthora sojae*. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. 72 p.
29. Erwin, D. C. 1983. Phytophthora: its biology, taxonomy, ecology, and pathology. St. Paul. MN, APS. 392 p.
30. \_\_\_\_\_.; Ribeiro, O. K. 1996. Phytophthora diseases worldwide. St. Paul, MN, APS. 562 p.
31. Fassio, A.; Pérez, O.; Ibáñez, W.; Ceretta, S.; Rabaza, C.; Vergara, G. 2017. Soja: adaptación de ciclos de madurez a diferentes épocas de siembra bajo condiciones de riego. (en línea). Revista INIA. no. 48:28-33. Consultado 29 mar. 2017. Disponible en <http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/revista-INIA-48-marzo-2017-ok.pdf>
32. Fehr, W. R.; Caviness, C. E.; Burmoodm, D. T.; Pennington, J. 1971. Stage of development descriptions for soybean, *Glycine max* (L) Merr. Crop Science. 11:929-931.
33. Flor, H. H. 1971. Current status of the gene-for-gene concept. Annual Review of Phytopathology. 9:275-296.
34. French, E. R.; Herbert, T. T. 1980. Métodos de investigación fitopatológica. San José, Costa Rica, IICA. 289 p.

35. Fry, W. E.; Grünwald, N. J. 2010. Introducción a los oomicetes. (en línea). The Plant Health Instructor. 13p. Consultado 15 jun. 2016. Disponible en DOI:10.1094/PHI-I-2010-1207-01.
36. Gijzen, M.; Qutob, D. 2009. *Phytophthora sojae* and soybean. In: Lamour, K.; Kamoun, S. eds. Oomycetes genetics and genomics: diversity, interactions and research tools. New York, Wiley. pp. 303-309.
37. Giménez, L. 2014. Efecto de las deficiencias hídricas en diferentes etapas de desarrollo sobre el rendimiento de soja. Agrociencia (Uruguay). 18(1):53-64.
38. González, C. s.f. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). (en línea). Buenos Aires, UBA. s.p. Consultado 15 jun. 2016. Disponible en <http://www.botanica.cnba.uba.ar/Pakete/Dibulgeneral/PCR/PCR.htm>
39. Goodwin, S. B. 1997. The population genetics of Phytophthora. Phytopathology. 87(4):462-473.
40. Grau, C. R.; Dorrance, A. E.; Russin, J.; Bond, J. 2004. Fungal diseases. In: Boerma, H. R.; Specht, J. E. eds. Soybeans: improvement, production, and uses. Madison, WI, American Society of Agronomy. pp. 692-694.
41. Hartman, G. L.; Rupe, J. C.; Sikora, L. L. 1999. Compendium of soybean diseases and pests. 4th. ed. St. Paul, MN, APS. 9 p.
42. Hernández, A. 2013. Productores agrícolas con más de mil hectáreas pasaron de 87 en 2004 a 213 en 2012. Agricultura extensiva en Uruguay. (en línea). Montevideo, Presidencia de la República. s.p. Consultado 24 mar. 2018. Disponible en <https://www.gub.uy/presidencia/comunicacion/noticias/productores-agricolas-mil-hectareas-pasaron-87-2004-213-2012#>
43. Hildebrand, D. F.; Phillips, G. C.; Collins, G. B. 1986. Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. In: Bajaj, Y. P. S. ed. Crops I. Biotechnology in Agriculture and Forestry 2. Berlin, Springer-Verlag. v. 2, pp. 283-308.
44. Hua, C.; Yang, X.; Wang, Y. 2015. *Phytophthora sojae* and soybean isoflavones, a model to study zoospore chemotaxis. (en línea). Physiological and Molecular Plant Pathology. 92:161-165.

Consultado 24 jun. 2017. Disponible en [https://www.researchgate.net/publication/278333422\\_Phytophthora\\_sojae\\_and\\_soybean\\_isoflavones\\_a\\_model\\_to\\_study\\_zoospore\\_chemotaxis](https://www.researchgate.net/publication/278333422_Phytophthora_sojae_and_soybean_isoflavones_a_model_to_study_zoospore_chemotaxis)

45. Infoagro.com. s.f. El cultivo de la soja. (en línea). s.n.t. 2 p. Consultado 10 dic. 2016. Disponible en <https://www.infoagro.com/herbaceos/industriales/soja.htm>
46. Inouye, J.; Shanmugasundaram, S.; Masuyama, T. 1979. Effects of temperature and day length on the flowering of some photo insensitive soybean varieties. s.l. Japanese Journal of Tropical Agriculture. 22(4):167-171.
47. Jackson, T. A.; Kirkpatrick, T. L.; Rupe, J. C. 2004. Races of *Phytophthora sojae* in Arkansas soybean fields and their effects on commonly grown soybean cultivars. Plant Disease. 88(4):345-351.
48. Kantolic, A.; Giménez, E.; De La Fuente, E. 2006. Soja. In: De La Fuente, E. B.; Gil, A.; Giménez, P. I.; Kantolic, A. G.; López Pereira, M.; Plos Chuk, E. L.; Sorlino, D. M.; Vilariño, P.; Wassner, D. F.; Windauer, L. B. eds. Cultivos industriales. Buenos Aires, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. cap. 2.2, pp. 95-144.
49. Kaufmann, M. J.; Gerdemann, J. W. 1958. Root and stem rot of soybean caused by *Phytophthora sojae* n.sp. Phytopathology. 48(4):201-208.
50. Kendrick, B. 2002. The fifth kingdom. s.p. (en línea). s.l., Mycologue Publications. s.p. Consultado 16 may. 2018. Disponible en <http://www.mycolog.com/fifhtoc.html>
51. Koivisto, J. M. s.f. *Glycine max* L. (en línea). Roma, FAO. s.p. Consultado 5 mar. 2016. Disponible en <http://www.fao.org/ag/agp/AGPC/doc/gbase/data/pf000543.htm>
52. Lavolette, F. A.; Athow, K. L. 1981. Physiologic races of *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* in Indiana, 1973-1979. Plant Disease. 65(11):884-885.

53. Leitz, R. A.; Hartman, G. L.; Pedersen, W. L.; Nickell, C. D. 2000. Races of *Phytophthora sojae* on soybean in Illinois. *Plant Disease*. 84(4):487-487.
54. Lin, F.; Zhao, M.; Ping, J.; Johnson, A.; Zhang, B.; Abney, T. S.; Ma, J. 2013. Molecular mapping of two genes for resistance to *Phytophthora sojae* in a soybean landrace PI 567139B. *Theoretical and Applied Genetics*. 126(8):2177-2185.
55. Maluenda, M. J. 2018. Record máximo en consumo y comercio en el sector de la soja 2017/18. (en línea). España, Agrodigital.com. 10 p. Consultado 16 may.2019. Disponible en <https://www.agrodigital.com/wp-content/uploads/2018/01/sojaen18.pdf>
56. Malvick, D. K.; Grunden, E. 2004. Traits of soybean-infecting *Phytophthora* populations from Illinois agricultural fields. *Plant Disease*. 88(10):1139-1145.
57. Matta, C. 2010. Spontaneous generation and disease causation; Anton de Bary's experiments with *Phytophthora infestans* and late blight of potato. *Journal of the History of Biology*. 43(3):459-491.
58. MGAP. DIEA (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Dirección de Investigaciones Estadísticas Agropecuarias, UY). 2015a. Anuario estadístico agropecuario 2015. (en línea). Montevideo. 215 p. Consultado 29 mar. 2017. Disponible en <http://www2.mgap.gub.uy/DieaAnterior/Anuario2015/DIEA-Anuario2015-01web.pdf>
59. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. 2015b. Encuesta agrícola "invierno 2015". (en línea). Montevideo. 22 p. (Serie Encuestas no.329). Consultado 20 jun. 2016. Disponible en [http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/encuesta\\_agricola\\_invierno\\_2015.pdf](http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/encuesta_agricola_invierno_2015.pdf)
60. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. 2016. Anuario estadístico agropecuario 2016. (en línea). Montevideo. pp. 72-89. Consultado 15 jun. 2017. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/unidad-ejecutora/oficina-de-programacion-y-politicas-agropecuarias/publicaciones/anuarios-diea/anuario2016>

61. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. 2018. Anuario estadístico agropecuario 2018. (en línea). Montevideo. 211 p. Consultado 14 may. 2018. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/unidad-organizativa/oficina-de-programacion-y-politica-agropecuaria/estadisticas-y-documentos/29-08>
62. Miguez, F. s.f. Criterios para seleccionar cultivares. (en línea). s.n.t. s.p. Consultado 29 mar. 2017. Disponible en [http://www.agrobit.com/Documentos/A\\_1\\_12\\_Soja%5C688\\_ag\\_000035so\[1\].htm](http://www.agrobit.com/Documentos/A_1_12_Soja%5C688_ag_000035so[1].htm).
63. Misaghi, I. J. 1982. Physiology and biochemistry of plant-pathogen interactions. New York, Plenum. 287 p.
64. Moroy, A. 2016. La gran hambruna irlandesa de 1845. (en línea). Montevideo, UY, El País, jun, 17:s.p. Consultado 7 abr. 2018. Disponible en <http://viajes.elpais.com.uy/2016/07/15/la-gran-hambruna-irlandesa-de-1845/>
65. Morris, P. F.; Ward, E. W. B. 1992. Chemoattraction of zoospores of the soybean pathogen, *Phytophthora sojae*, by isoflavones. Physiological and Molecular Plant Pathology. 40(1):17-22.
66. \_\_\_\_\_.; Bone, E.; Tyler, B. M. 1998. Chemotropic and contact responses of *Phytophthora sojae* hyphae to soybean isoflavonoids and artificial substrates. Plant Physiology. 117(4):1171-1178.
67. Mullis, K.; Faloona, F.; Scharf, S.; Saiki, R.; Horn, G.; Erlich, H. 1986. Specific enzymatic amplification of dna in vitro: the polymerase chain reaction. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology. 51:263-273.
68. Musa, G.; Garrone, N.; Chaves, V. 2010. Análisis de la NIC 41 agricultura y su aplicación en Uruguay al cultivo de soja. (en línea). Contador Público. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República. Facultad de Ciencias Económicas. 158 p. Consultado 29 mar. 2017. Disponible en <https://www.colibri.udelar.edu.uy/bitstream/123456789/334/1/M-CD3990.pdf>
69. Parker, J. ed. 2009. Molecular aspects of plant disease resistance. Oxford, Wiley. 400 p. (Annual Plant Reviews no. 34).

70. Rocha, J. P.; Villalobos, V. M. cords. 2012. Estudio comparativo entre el cultivo de soja genéticamente modificada y el convencional en Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay. (en línea). San José, Costa Rica, IICA. 90 p. Consultado 29 mar. 2017. Disponible en <https://www.iica.int/sites/default/files/publications/files/2015/B2992e.pdf>
71. Ryley, M. J.; Obst, N. R.; Irwin, J. A. G.; Drenth, A. 1998. Changes in the racial composition of *Phytophthora sojae* in Australia between 1979 and 1996. *Plant Disease*. 82(9):1048-1054.
72. Sans, A.; Rodríguez, M.; Silva P.; Stewart, S. 2017. Primer reporte de *Phytophthora sojae* y sus patotipos afectando soja en Uruguay. *Agrociencia (Uruguay)*. 21(1):89-94.
73. Sarasola, A. A.; Roca De Sarasola, M. A. 1975. *Micosis*. Buenos Aires, Hemisferio Sur. t.3, 374 p.
74. Schmitthenner, A. F. 1985. Problems and progress in control of *Phytophthora* root rot of soybean. *Plant Disease*. 69(4):362-368.
75. \_\_\_\_\_; Bhat, R. G. 1994a. Useful methods for studying *Phytophthora* in laboratory. OARDC. Special Circular. no.143:1-10.
76. \_\_\_\_\_; Hobe, M.; Bhat, R. G. 1994b. *Phytophthora sojae* races in Ohio over a 10-year interval. *Plant Disease*. 78:269-276.
77. Soares, A. P. G.; Guillin, E. A.; Borges, L. L.; Silva, A.; Almeida, Á.; Grijalba, P. E. 2015. More *Cercospora* species infect soybeans across the Americas than meets the eye. (en línea). *PLoS ONE* 10(8): e0133495. Consultado 24 jun. 2017. Disponible en doi:10.1371/journal.pone.0133495.
78. Stewart, S. 2011. Characterization and management of genetic diversity in *Phytophthora sojae* populations. Thesis PhD. Ames, Iowa, USA. Iowa State University. 153 p.
79. Sun, S.; Wu, X. L.; Zhao, J. M.; Wang, Y. C.; Tang, Q. H.; Yu, D. Y.; Xing, H. 2010. Characterization and mapping of *Rps* Yu25, a novel resistant gene to *Phytophthora sojae*. *Plant Breeding*. 130(2):139-143.

80. Toledo, R. 2006. Etapas fenológicas del cultivo de soja. (en línea). Córdoba, UNC. FCA. 4 p. Consultado 20 oct. 2016. Disponible en [http://agro.unc.edu.ar/~ceryol/documentos/soja/feno\\_soja.pdf](http://agro.unc.edu.ar/~ceryol/documentos/soja/feno_soja.pdf)
81. UBA. FA (Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía, AR). s.f. Galería de especies de uso industrial, soja (*Glycine max* (L.) Merr.). (en línea). Buenos Aires. 1 p. Consultado 15 jun. 2017. Disponible en [https://www.agro.uba.ar/catedras/cul\\_indus/galeria/soja](https://www.agro.uba.ar/catedras/cul_indus/galeria/soja).
82. Uruguay XXI. 2013. Nuevos destinos y récord de exportaciones en el 2012. (en línea). Montevideo. s.p. Consultado jul. 2017. Disponible en <https://www.uruguayxxi.gub.uy/es/noticias/articulo/2012-cierra-con-un-nuevo-record-de-exportaciones/>
83. Vallone, S.; Botta, G.; Ploper, D.; Grijalba, P.; Gally, M.; Barreto, D.; Perez, B. 1999. Incidencia de *Phytophthora sojae* en cultivos de soja en las regiones Pampeana Norte y Noroccidental de Argentina. In: Mercosoja 99 (1999, Rosario). Actas. Rosario, Colegio de Ingenieros Agrónomos de Santa Fe/IANBA. pp. 21-23.
84. \_\_\_\_\_; Salines, L. 2002. Una enfermedad fúngica de la soja siempre vigente y en incremento; la podredumbre de la raíz y base del tallo (*Phytophthora sojae*). (en línea). Marcos Juárez, INTA. s.p. Consultado 25 jun. 2017. Disponible en <https://www.engormix.com/agricultura/articulos/enfermedad-fungica-soja-t26268.htm>
85. Waterhouse, G. M. 1963. Key To The species of *Phytophthora* De Bary. Kew, Surrey, Commonwealth Mycological Institute. 22 p. (Mycological Papers no. 92).
86. Wikipedia. 2016. *Phytophthora*. (en línea). s.l. s.p. Consultado 20 jun. 2017. Disponible en <https://en.wikipedia.org/wiki/Phytophthora>
87. Wilcox, J. R.; St. Martin, S. K. 1998. Soybean genotypes resistant to *Phytophthora sojae* and compensation for yield losses of susceptible isolines. *Plant Disease*. 82:303-306.
88. Wrather, J. A.; Koenning, S. R. 2009. Effects of diseases on soybean yields in the United States. (en línea). *Plant Health Progress*. 7 p. Consultado 25 mar. 2017. Disponible en

<https://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/2009/yields/yields.pdf>

89. Yang, X. B.; Ruff, R. L.; Meng, X. Q.; Workneh, F. 1996. Races of *Phytophthora sojae* in Iowa soybean fields. Plant Disease. 80:1418-1420.
90. Zhang, J.; Xia, C.; Duan, C.; Sun, S.; Wang, X.; Wu, X.; Zhendong, Z. 2013. Identification and candidate gene analysis of a novel *Phytophthora* resistance gene *Rps10* in a Chinese soybean cultivar. (en línea). PLoS ONE 8(7): e69799. Consultado 25 mar. 2017. Disponible en <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0069799>