

## **Virulencia de aislamientos de *Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Sydow en soja (*Glycine max* L. Merr.) en Argentina.**

---

Tesis presentada para optar al título de Magister Scientiae de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata

MIGUEL ANGEL LAVILLA.



DIRECTOR: Dr. Antonio Ivancovich<sup>1;2</sup>

CODIRECTOR: Ing. Agr. Daniel O. Giménez<sup>2;3</sup>

<sup>1</sup> INTA Pergamino, provincia de Buenos Aires, Argentina;

<sup>2</sup> Universidad Nacional de la provincia de Buenos Aires (UNNOBA);

<sup>3</sup> Universidad Nacional de La Plata (UNLP).

Tribunal evaluador:

Dr. Azucena del Carmen Ridaó.

Dr. Eduardo R. Wright.

Ing. Agr. Gustavo Dal Bello.

Fecha de evaluación:

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTO:

- A mi familia, mi padre Ricardo, mi madre Isabel y mis hermanos Marcelo y Marcos, que me han apoyado con fervor en este proyecto.
- A mis amigos que me han ayudado en todos los momentos.
- A mis profesores que me han brindado sus conocimientos y me han enseñado el arte de la agronomía.
- A Antonio Ivancovich, Daniel Gimenez, Carlos Senigagliesi, Luis Allieri y Hernán Russian que me han formado personalmente y profesionalmente.
- A Buffon S.A. por darme los recursos y el tiempo necesarios para poder realizar el master en protección vegetal en la universidad de La Plata.
- A INTA Pergamino y a la UNNOBA, por brindarme el espacio para formarme como ingeniero agrónomo.

## ÍNDICE

INDICE DE FIGURA.....	iv
INDICE DE TABLA.....	vi
ABSTRACT.....	ix
RESUMEN.....	x
<b>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE <i>Phakopsora pachyrhizi</i> .....	3
INTERACCIÓN PLANTA-PATÓGENO.....	3
CICLO EPIDEMIOLÓGICO DE <i>Phakopsora pachyrhizi</i> .....	6
SÍNTOMAS DE LA ENFERMEDAD.....	8
VIRULENCIA DE <i>Phakopsora pachyrhizi</i> Sydow & Sydow.....	10
HIPÓTESIS.....	11
OBJETIVO GENERAL.....	11
OBJETIVO ESPECÍFICO.....	11
<b>CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>12</b>
OBTENCIÓN DEL INÓCULO.....	12
VARIEDADES DIFERENCIALES.....	14
OBTENCIÓN DE LAS PLANTAS.....	16
INOCULACIÓN DE LAS PLANTAS.....	16
CARACTERIZACIÓN DE LA VARIABILIDAD DE LA VIRULENCIA DE LOS AISLAMIENTOS.....	17
<b>CAPÍTULO III: RESULTADOS.....</b>	<b>19</b>
<b>CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN.....</b>	<b>37</b>
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES.....</b>	<b>41</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>42</b>

## ÍNDICE DE FIGURA

FIGURA 1. UREDINIO DE <i>P. PACHYRHIZI</i> EN LESIÓN EN HOJA DE SOJA (A) Y ECLOSIONADO (B).....	4
FIGURA 2. UREDINIOSPORA DE <i>P. PACHYRHIZI</i> .....	4
FIGURA 3. TELIOSPORAS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> (W. SAKSIRIRAT/KHON KAEN UNIVERSITY).....	4
FIGURA 4. RELACIONES ENTRE LOS COMPONENTES DE LA ENFERMEDAD Y EL MEDIO AMBIENTE OBTENIDO TRAS EL ANÁLISIS DE LOS DATOS PUBLICADOS DE ESTUDIOS DIFERENTES. (A) EFECTO DE LA TEMPERATURA Y HAS HORAS DE ROCÍO SOBRE LA GERMINACIÓN DE LAS UREDINIOSPORAS (MARCHETTI <i>ET AL.</i> , 1976); (B) EFECTO DE LA TEMPERATURA Y HAS HORAS DE ROCÍO SOBRE LA INFECCIÓN (MARCHETTI <i>ET AL.</i> , 1976); (C) MADURACIÓN DE LOS UREDINIOS EN FUNCIÓN AL TIEMPO POSTINOCULACIÓN (YEH <i>ET AL.</i> , 1982); (D) UREDINIOS POR LESIÓN EN FUNCIÓN AL TIEMPO POSTINOCULACIÓN (MARCHETTI <i>ET AL.</i> , 1976); (E) SENESCENCIA DE LOS UREDIONIOS EN FUNCIÓN AL TIEMPO POSTINOCULACIÓN (YEH <i>ET AL.</i> , 1982). .....	5
FIGURA 5. GERMINACIÓN DE LA UREDINIOSPORA DE <i>PHAKOPSORA PACHYRHIZI</i> , DONDE SE MUESTRA EL TUBO GERMINATIVO Y EL APRESORIO.....	6
FIGURA 6. ESTRUCTURA INTERNA DE UNA HOJA DE SOJA TÍPICA QUE MUESTRA LAS DIFERENTES CAPAS DE CÉLULAS Y LA INFECCIÓN POR UN HONGO DE LA ROYA. GT: TUBO GERMINATIVO, AP: APRESORIO, PH: PENETRACIÓN DE LA HIFA, IH: INFECCIÓN DE LA HIFA, H: HAUSTORIO (TREMBLAY <i>ET AL.</i> , 2010). ....	7
FIGURA 7. CICLO ESQUEMÁTICO DE <i>PHAKOPSORA PACHYRHIZI</i> (REIS <i>ET AL.</i> , 2006; PASSINI, 2007).....	8
FIGURA 8. SÍNTOMAS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> EN EL ENVÉS DE LA HOJA DE SOJA.....	9

FIGURA 9. SÍNTOMAS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> EN EL PECÍOLO (A) Y EN EL TALLO (B) EN LA PLANTA DE SOJA (USDA-ARS).....	9
FIGURA 10. SÍNTOMAS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> EN EL HAZ DE LA HOJA DE SOJA.....	9
FIGURA 11. MATERIALES PARA LA PREPARACIÓN DEL INÓCULO DE <i>P. PACHYRHIZI</i> .....	13
FIGURA 12. (A) CUANTIFICACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ESPORAS MEDIANTE LA OBSERVACIÓN EN EL MICROSCOPIO ÓPTICO, UTILIZANDO UN (B) HEMATOCITÓMETRO (CÁMARA DE NEUBAUER).....	13
FIGURA 13. CAJA DE PETRI CON AGAR AGUA Y GOTAS DE SUSPENSIÓN DE UREDINIOSPORAS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> EN AGUA.....	14
FIGURA 14. VARIEDADES DIFERENCIALES DE SOJA EN LA CÁMARA DE CRECIMIENTO.....	15
FIGURA 15. VARIEDAD DIFERENCIAL INOCULADA Y POSTERIORMENTE SOMETIDA A CÁMARA DE OSCURIDAD.....	16
FIGURA 16. EVALUACIÓN DE LA VIRULENCIA PATOGENICA DE LOS AISLAMIENTOS ANALIZADOS MEDIANTE VARIEDADES DIFERENCIALES EN LUPA X 100 BINOCULAR WILL.....	17

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: VARIEDADES DIFERENCIALES UTILIZADAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LA VIRULENCIA DE DISTINTOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> (JIRCAS, JAPÓN).....	14
TABLA 2.a. CRITERIOS PARA DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE RESISTENCIA A ROYA DE LA SOJA.....	18
TABLA 2.b. TABLA ESTANDARIZADA DE LA INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN (YORINORI, 2008).....	18
TABLA 3.A: COMPARACIÓN ENTRE LAS REACCIONES DE LAS VARIEDADES DIFERENCIALES Y LOS AISLAMIENTOS DE LAS LOCALIDADES DE LEDESMA (JUJUY), CERRO AZUL (MISIONES), PERGAMINO (BUENOS AIRES), Y ROSARIO (SANTA FÉ) – 2012, PARA DETECTAR VIRULENCIA PATOGENICA DE <i>PHAKOSPORA PACHYRHIZI</i> .....	20
TABLA 3B.1: INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN LOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> DE LAS DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA SOBRE LA (V.D.) 1- PI 200492 (SEGÚN YORINORI, 2008).....	21
TABLA 3B.2. INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN LOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> DE LAS DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA SOBRE LA (V.D.) TAINUNG-4 PI 368039 (SEGÚN YORINORI, 2008).....	22
TABLA 3B.3. INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN LOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> DE LAS DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA SOBRE LA (V.D.) 3- PI 230970 (SEGÚN YORINORI, 2008).....	23
TABLA 3B.4. INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN LOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> DE LAS DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA SOBRE LA (V.D.) 4- PI 417125 (SEGÚN YORINORI, 2008).....	24
TABLA 3B.5. INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN LOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> DE LAS DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA SOBRE LA (V.D.) 5- PI 462312 ANKUR (SEGÚN YORINORI, 2008).....	25

TABLA 3B.6. INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN LOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> DE LAS DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA SOBRE LA (V.D.) 6- PI 459025 (SEGÚN YORINORI, 2008).....	26
TABLA 3B.7. INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN LOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> DE LAS DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA SOBRE LA (V.D.) 7- SHIRANUI PI 200526 (SEGÚN YORINORI, 2008).....	27
TABLA 3B.8. INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN LOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> DE LAS DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA SOBRE LA (V.D.) 8- PI 416764 (SEGÚN YORINORI, 2008).....	28
TABLA 3B.9. INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN LOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> DE LAS DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA SOBRE LA (V.D.) 9- PI 587855 (SEGÚN YORINORI, 2008).....	29
TABLA 3B.10. INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN LOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> DE LAS DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA SOBRE LA (V.D.) 10-PI 587880 A (SEGÚN YORINORI, 2008).....	30
TABLA 3B.11. INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN LOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> DE LAS DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA SOBRE LA (V.D.) 11-PI 587886 (SEGÚN YORINORI, 2008).....	31
TABLA 3B.12. INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN LOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> DE LAS DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA SOBRE LA (V.D.) 12-PI 587905 (SEGÚN YORINORI, 2008).....	32
TABLA 3B.13. INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN LOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> DE LAS DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA SOBRE LA (V.D.) 13-PI 594767 A (SEGÚN YORINORI, 2008).....	33
TABLA 3B.14. INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN LOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> DE LAS DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA SOBRE LA (V.D.) 14-BRS 154 (SEGÚN YORINORI, 2008).....	34
TABLA 3B.15. INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN LOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> DE LAS DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA SOBRE LA (V.D.) 15-TK5 (SEGÚN YORINORI, 2008).....	35

TABLA 3B.16. INTENSIDAD DE ESPORULACIÓN LOS AISLAMIENTOS DE <i>P. PACHYRHIZI</i> DE LAS DIFERENTES PROVINCIAS DE ARGENTINA SOBRE LA (V.D.) 16- WAYNE 200492 (SEGÚN YORINORI, 2008).....	36
---	----



## ABSTRACT

Soybean (*Glycine max* L. Merrill) is currently the main agricultural crop in the Pampa area and is the most important export product in Argentina. Soybean is affected by various diseases, which can reduce yield by 8-10% with a maximum of 30%. Among the various diseases affecting the cultivation of soybeans are the so-called End Cycle Diseases (ECD) that increases their intensity after the state of development R<sub>3-4</sub>. In March 2002, the Asian soybean rust (ASR) caused by the pathogen biotrophic *Phakopsora pachyrhizi*, was first detected in the province of Misiones, joining the ECD complex in Argentina, which by its distinctive features of easily spread and high sporulation, in less than 21 days comes to affect 90% of the crop and may reduce performance significantly, and becomes the most feared disease of soybean producers in the world. This thesis refers to the virulence of *P. pachyrhizi* in Argentina, by gathering uredinia and urediniospores populations of rust in different regions of the country, Cerro Azul (Misiones), Ledesma (Jujuy), Rosario (Santa Fe) and Pergamino (Buenos Aires) for the cycle 2011/2012. In order to determine pathogen virulence in Argentina were used 16 differential varieties (D.V.) having different soybean resistance genes, helping to identify the presence of virulence of *P. pachyrhizi* in Argentina. The results of this work have shown differing virulence of *P. pachyrhizi* between the four analyzed isolates of *P. pachyrhizi*. Various studies suggest that the Rpp5 locus which is in the D.V. Shiranui (PI 200526) is the main contributor of all characters of resistance and can be considered as the main factor for resistance to *P. pachyrhizi*. In this experience found difference in virulence of the isolates in *P. pachyrhizi*, between different provinces of Argentina, in 2012. None of Differential Varieties (VD) were resistant to all four isolates tested. The V.D. Shiranui (PI 200526) containing the introduced gene RPP5 susceptibility reaction to the isolation of Pergamino (Buenos Aires). A PI 594767 and PI 587855 unknown genes, resistant to all isolates tested earlier in the country, varieties were found to be susceptible to the isolation of Cerro Azul (Misiones) and VD PI 587855 also susceptible to isolation of Pergamino (Buenos Aires) in 2012.

## RESUMEN

La soja (*Glycine max* L. Merr.) es actualmente, el principal cultivo agrícola de la zona pampeana y el más importante rubro de exportación en Argentina. La soja es afectada por diversas enfermedades, las cuales pueden reducir el rendimiento entre un 8 a un 10 % con un máximo del 30 %. Dentro de las diversas enfermedades que afectan al cultivo de soja se encuentran las denominadas Enfermedades de Fin de Ciclo (EFC) que aumentan su intensidad después del estado de desarrollo R<sub>3-4</sub>. En marzo de 2002, la roya asiática de la soja (RAS) causada por el patógeno biotrófico *Phakopsora pachyrhizi*, fue detectada por primera vez en la provincia de Misiones, incorporándose al complejo de EFC en Argentina, que por sus características distintivas de fácil propagación y de alta esporulación, en menos de 21 días llega a afectar el 90 % del cultivo y puede reducir el rendimiento significativamente, convirtiéndola en la enfermedad más temidas por los productores de soja en el mundo. Esta tesis hace referencia sobre la virulencia de *P. pachyrhizi* en Argentina, mediante la recolección de poblaciones de uredinios y urediniosporas de roya en diferentes regiones del país, Cerro Azul (Misiones), Ledesma (Jujuy), Rosario (Santa Fe) y Pergamino (Buenos Aires) durante el ciclo 2011/2012. Para determinar la virulencia patogénica se utilizaron 16 variedades diferenciales (V.D.) de soja que presentan distintos genes de resistencia, ayudando a identificar la presencia de virulencia de *P. pachyrhizi* en Argentina. Los resultados de este trabajo han demostrado diferente virulencia de *P. pachyrhizi* en Argentina entre los cuatro aislamientos de *P. pachyrhizi* analizados. Diversos trabajos sugieren que el locus Rpp5 que se encuentra en la V.D. Shiranui (PI 200526) es el que más contribuyó para todos los caracteres de resistencia y que puede ser considerado como el principal factor para la resistencia a *P. pachyrhizi*. En esta experiencia se ha encontrado diferencia en la virulencia de los aislamientos en *P. pachyrhizi*, entre las diferentes provincias de Argentina, durante el año 2012. Ninguna de las Variedades Diferenciales (V.D.) fueron resistentes a los cuatro aislamientos analizados. La V.D. Shiranui (PI 200526) que contiene el gen Rpp5 presentó reacción de susceptibilidad frente al aislamiento de Pergamino (Buenos Aires). Las variedades PI 594767 A y PI 587855 de genes desconocidos, resistente a todos los aislamientos anteriores analizados en el país,

resultaron ser susceptible al aislamiento de Cerro Azul (Misiones) y la V.D. PI 587855 también susceptible al aislamiento de Pergamino (Buenos Aires) en el año 2012.

## INTRODUCCIÓN

La soja (*Glycine max* L. Merr.) es actualmente, el principal cultivo agrícola de la zona pampeana y el más importante rubro de exportación en Argentina. La producción mundial de soja en la campaña 2011/12 fue de 236.869.000 de toneladas, donde Argentina abarcó el 18 % del total mundial producido por detrás de Brasil (27 %) y de los EEUU (35 %) (USDA, 2012). El cultivo de soja en Argentina ocupa una superficie de 18.660.000 has, con un rendimiento promedio nacional de 24 qq ha<sup>-1</sup> (SAGPyA, 2012) y una estimación de producción para la campaña 2011/12 según la SAGPyA (2012) de 40.100.000 toneladas.

Las enfermedades de soja pueden constituirse como importantes factores limitantes de producción. Dentro de la diversas enfermedades se destacan las denominadas Enfermedades de Fin de Ciclo (EFC) que aumentan su intensidad después del estado de desarrollo R<sub>3-4</sub>, coincidiendo con el período crítico del cultivo de soja que oscila entre el estado R<sub>1</sub> al estado R<sub>6</sub>, observándose las mayores mermas en el número de granos m<sup>-2</sup> entre R<sub>4</sub> a R<sub>5.5</sub> y el peso de granos (g) entre R<sub>5.5</sub> y R<sub>7</sub>, cuando el cultivo de soja es sometido a estrés (Kantolic *et al.*, 2005).

Un estrés biótico por una enfermedad como la roya asiática de la soja (RAS) en los estados fenológicos R<sub>4</sub> y R<sub>6</sub> induce a mermas en la captura de radiación, por efecto de una defoliación precoz reduciendo el rendimiento entre un 8-10 % con un máximo de 30 %. La senescencia precoz de la planta de soja afecta a los mecanismos naturales de resistencia volviéndolos menos activos y aumentando la susceptibilidad del cultivo de soja al complejo de EFC (Carmona *et al.*, 2004).

La primera vez que se detectó y se estudió a *Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Sydow, agente causal de la RAS, fue en Japón en el año 1902 (Henning y Godoy, 2006). Años posteriores se detectó este patógeno en diferentes regiones del mundo:

- En 1906 en India (Begenisic *et al.*, 2004).
- En 1913 y en 1926 en América central, pero sólo en 1976 en Puerto Rico se la encontró relacionada con el cultivo de soja (Pivonia y Yang, 2004).
- En 1934 en Australia (Goellner *et al.*, 2010).
- En 1940 en China (Begenisic *et al.*, 2004).
- En 1957 en Rusia (Begenisic *et al.*, 2004).

- En 1994 en Hawaii (Killgore *et al.*, 1994).
- En 1996 en Africa (Kawaki *et al.*, 2003).
- En 2001 en América del sur (Yorinori, 2002).

En marzo de 2002, la RAS fue encontrada por primera vez en la provincia de Misiones (Rossi, 2003) y al año siguiente en Corrientes (Ivancovich, 2003), no llegando a afectar las principales regiones sojeras del país. A partir de diciembre de 2003 se empezó a ejecutar el componente de vigilancia fitosanitaria y oficialización de las detecciones de la RAS dentro del Programa Nacional de Roya de la Soja (Res. SAGPyA N° 538/2003). Durante la campaña 2003-2004, *P. pachyrhizi* fue detectado afectando lotes de soja en las provincias de Salta, Tucumán, Catamarca, Formosa, Chaco, Santiago del Estero, Misiones, Corrientes, Entre Ríos y centro-norte de Santa Fe (Frigidi, 2004; 2005). En la campaña 2004-2005, *P. pachyrhizi* fue hallado en las provincias de Jujuy, Entre Ríos, Santa Fe, Córdoba, Buenos Aires y La Pampa (Frigidi, 2005; 2006), incluyendo también detecciones de RAS en las provincias ya nombradas durante la campaña 2003-2004. *P. pachyrhizi* fue encontrado no solamente en soja, sino también en hospedantes alternativos tales como kudzu (*Pueraria lobata*), cajanus o guandú (*Cajanus cajan*) y mucuna (*Stylobium niveum*) (Ivancovich y Botta, 2002).

Esta enfermedad es producida por dos especies de patógenos, correspondientes al género *Phakopsora*: *P. pachyrhizi*, especie comúnmente llamada “roya asiática” (RAS), de mayor virulencia y *P. meibomia* o “roya americana”, más benigna que la anterior (Sinclair y Hartman, 1995; Ono *et al.*, 1992). En Argentina no se detectó la enfermedad causada por el patógeno *P. meibomia*.

La característica distintiva de la RAS, la convierte en una de las enfermedades más temidas para los productores de soja en el mundo, por ser de fácil propagación (las urediniosporas pueden ser trasladadas a grandes distancias por el viento) y de alta esporulación (Yang, 2003), en menos de 21 días puede llegar a afectar el 90 % del cultivo (Ivancovich y Couretot, 2008). En Japón y Taiwán se han evaluado mermas en el rendimiento del cultivo de soja por la RAS que oscilan entre el 40 % y 80 % respectivamente (Yang *et al.*, 1992).

En numerosos trabajos ha sido estudiado y verificado que la RAS presenta virulencia patogénica en diversas partes del mundo (Yeh *et al.*, 1983, Yamaoka *et al.*,

2002). Por ende esta investigación tendrá como objetivo principal caracterizar la posible virulencia de *P. pachyrhizi* agente causal de la RAS en Argentina y de este modo poder contribuir en la búsqueda de materiales genéticamente resistentes a la roya de la soja.

#### CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *Phakopsora pachyrhizi*:

- Reino: Fungi
- Phylum: Basidiomycota
- Clase: Pucciniomycetes
- Orden: Pucciniales
- Familia: Phakopsoraceae
- Género: *Phakopsora*
- Especie: *Phakopsora pachyrhizi* HD. Sydow & Sydow (Teleomorfo *Malupa sojae*, P.Hennings).  
(CABI, 2013)

#### INTERACCIÓN PLANTA-PATÓGENO

*Phakopsora pachyrhizi* es un patógeno biotrófico, que no sobrevive en los rastrojos infectados, sino en las plantas espontáneas de soja “guachas” y en numerosos hospedantes alternativos de este hongo. Se han citado 31 especies en 17 géneros de leguminosas que son hospedantes de *P. pachyrhizi* en la naturaleza, y 24 especies en 19 géneros que son hospedantes de ambas especies de *Phakopsora* (*P. pachyrhizi*; *P. meibomia*), entre las que se pueden mencionar: kudzu (*Pueraria lobata*), trébol (*Melilotus spp.*), lupino (*Lupinus hirsutus*), poroto (*Phaseolus vulgaris*), caupi (*Vigna unguiculata*), entre otras (Ono *et al.*, 1992; Sinclair and Backman, 1989).

*Phakopsora pachyrhizi* produce cinco tipos de esporas diferentes: basidiosporas, picniosporas, ecidiosporas, urediniosporas y teliosporas, las cuales son producidas durante las diferentes etapas en el ciclo de vida del hongo (Formento y Souxa, 2004). En Argentina la RAS produce solamente urediniosporas provenientes de uredinios (figura 1), las que son dispersadas por las corrientes de aire, causando la infección en el cultivo. Las urediniosporas (figura 2) son hialinas ovoides a elipsoidales, midiendo 16 a 24 por 24 a 31

$\mu\text{m}$  (Killgore *et al.*, 1994). Los telios de 0.15-0.5 mm de diámetro son subepidérmicos de color pardo claro a oscuro, los cuales liberan teliosporas (figura 3) unicelulares, de forma variable (angular globoso, oblongas a elipsoidales) y dispuestas en forma irregular (Hernández, 2004).

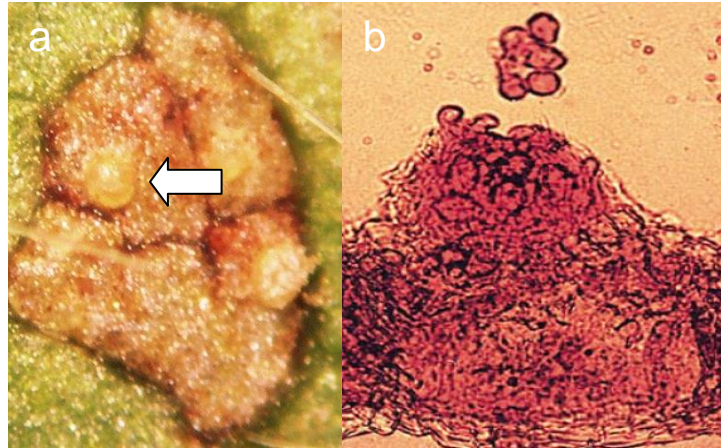


Figura 1. Uredinio de *P. pachyrhizi* en lesión en hoja de soja (a) y eclosionado (b) (gentileza Ivancovich, A).

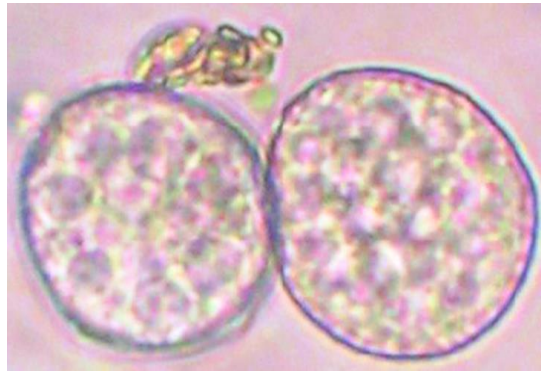


Figura 2. Urediniosporas de *P. pachyrhizi*.

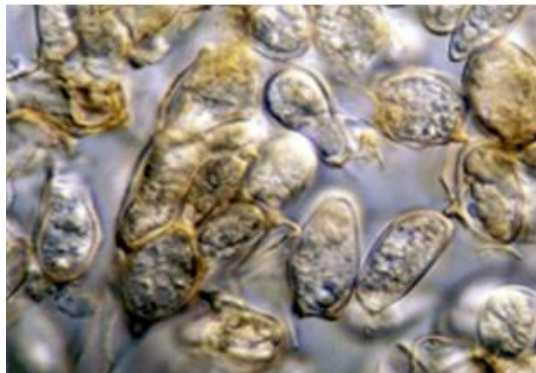


Figura 3. Teliosporas de *P. pachyrhizi* (W. Saksirirat/Khon Kaen University).

La germinación de las urediniosporas ocurre con menos de seis horas de rocío y temperaturas entre 8° y 36° C, con un óptimo entre 16° y 24° C (figura 4.a; Marchetti *et al.*, 1976). La infección ocurre también con un mínimo de seis horas de rocío y temperaturas entre los 11° y 28° C, con un óptimo entre 19° y 24° C (figura 4.b; Marchetti *et al.*, 1976). Con temperaturas entre los 22° a 27° C a los 12 días luego de la infección ocurre el pico de maduración de los uredinios, produciendo una nueva generación de urediniosporas (figura 4.c; Yeh *et al.*, 1982).

En condiciones favorables, tiempo fresco y húmedo, es posible progresar desde una infección inicial a un 90% del lote de soja infectado con RAS en tres semanas (figura 4.b; Marchetti *et al.*, 1976). Los uredinios por lesión aumentan en forma lineal hasta los 50 días posteriores a la infección (Figura 4.d; Marchetti *et al.*, 1976). Los uredinios, pueden sobrevivir hasta 28 días luego de la infección (Figura 4.e; Yeh *et al.*, 1982) y las urediniosporas 50 días (Yeh *et al.*, 1982; Ploper y Devaní, 2002). Las urediniosporas son dispersas fácilmente por el viento, confiriéndole la posibilidad de ser diseminadas a grandes distancias geográficas (Ivancovich y Couretot, 2008).

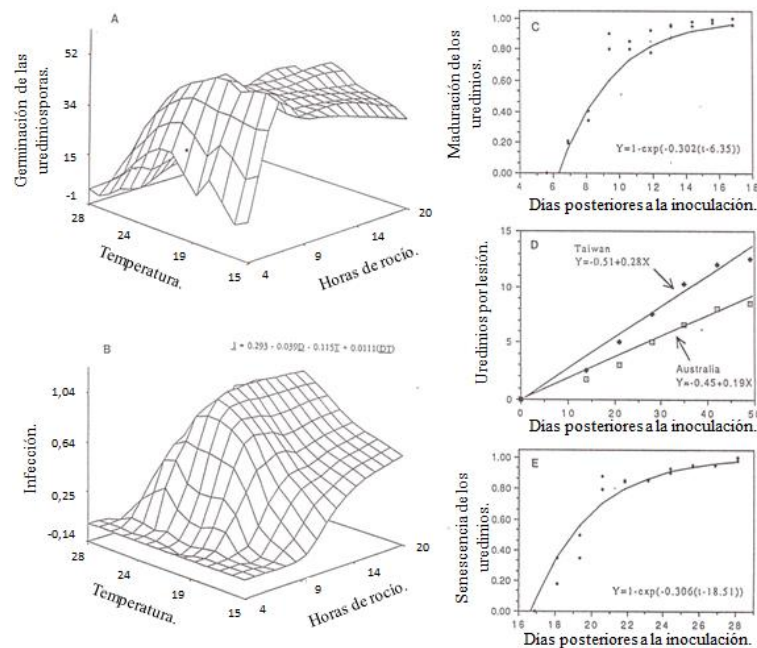


Figura 4. Relaciones entre los componentes de la enfermedad y el medio ambiente obtenido tras el análisis de los datos publicados de estudios diferentes. (a) Efecto de la temperatura y has horas de rocío sobre la germinación de las urediniosporas (Marchetti *et al.*, 1976); (b) Efecto de la temperatura y has horas de rocío sobre la infección (Marchetti *et al.*, 1976); (c) Maduración de los uredinios en función al tiempo postinoculación (Yeh *et al.*, 1982); (d) Uredinios por lesión en función al tiempo postinoculación (Marchetti *et al.*, 1976); (e) Senescencia de los uredinios en función al tiempo postinoculación (Yeh *et al.*, 1982).



Ciclo epidemiológico de *Phakopsora pachyrhizi*: El agente causal de la RAS es un patógeno policíclico, que cada 15 días desarrolla una nueva generación de esporas dentro del cultivo de soja (Miles *et al.*, 2004). *P. pachyrhizi* presenta la capacidad de producir abundante urediniosporas bajo las condiciones ambientales favorables (Ivancovich y Couretot, 2008). El proceso de infección se inicia cuando las urediniosporas germinan, penetran en la superficie de la hoja del hospedero y cinco a ocho días después se forman los uredinios, los cuales a los siete u ocho días maduran, eclosionan y liberan las urediniosporas para regenerar un nuevo ciclo epidemiológico (Yeh *et al.*, 1982).

Cuando las urediniosporas germinan producen un solo tubo germinativo cada una, que crece en la superficie de la hoja hasta que llega a una superficie adecuada para el desarrollo del apresorio (figura 5). El apresorio además de penetrar por los estomas de las hojas (figura 6) puede pasar directamente a través de la cutícula (característica particular de *P. pachyrhizi*) emerge en el espacio intercelular, donde forma un tabique para producir la infección primaria de hifas (7-12 hs después de la llegada de las esporas al envés de las hojas). Luego de la infección primaria se desarrollan las hifas secundarias en el mesófilo en empalizada y esponjoso, donde se forma el haustorio, a las 20 hs de la llegada de las esporas al hospedante (figura 6) (Bromfield, 1984; Tremblay *et al.*, 2010).



Figura 5. Germinación de la urediniospora de *Phakopsora pachyrhizi*, donde se muestra el tubo germinativo y el apresorio.

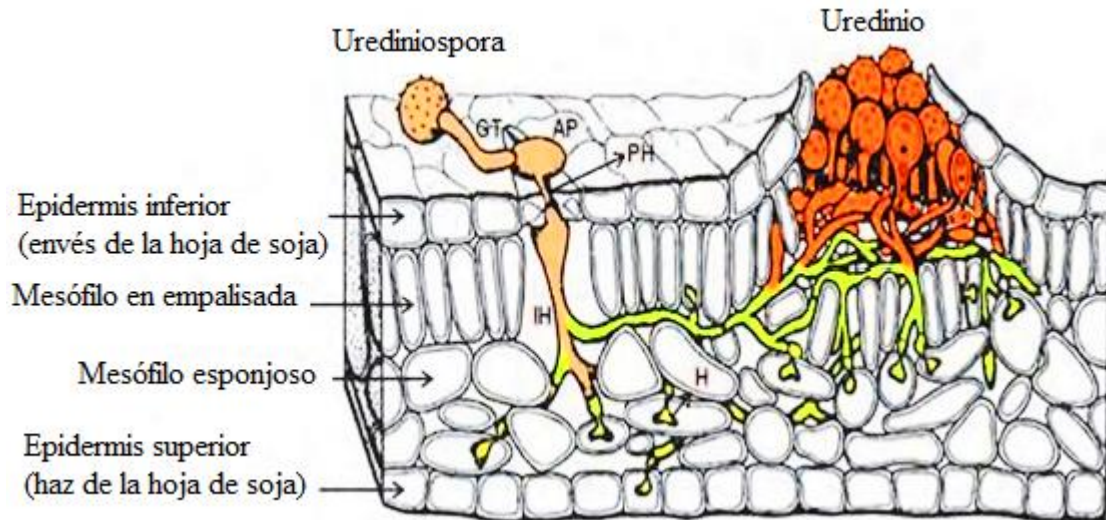


Figura 6. Estructura interna de una hoja de soja típica que muestra las diferentes capas de células y la infección por roya. GT: tubo germinativo, AP: apresorio, PH: penetración de la hifa, IH: infección de la hifa, H: haustorio (Tremblay *et al.*, 2010).

Para que el ciclo (figura 7) se regenere las esporas deben sobrevivir en hospedantes alternativos o en la llamada soja “guacha” siendo ésta su forma de propagación asexual (Pivonia y Yang, 2004; Passini, 2007). La reproducción sexual del hongo se produce a través de la germinación de las teliosporas que se han logrado en condiciones de laboratorio (Saksirirat y Hoppe, 1991) y sería la forma de propagación sexual que presentaría el hongo; hasta ahora en Argentina no se han encontrado telios de *P. pachyrhizi* de viables en la naturaleza (Bronfield, 1984).

El nivel de pérdida causada por la RAS en el cultivo de soja depende del estado fenológico en que comienzan los síntomas, y de la severidad de los mismos (Ivancovich y Couretot, 2008).

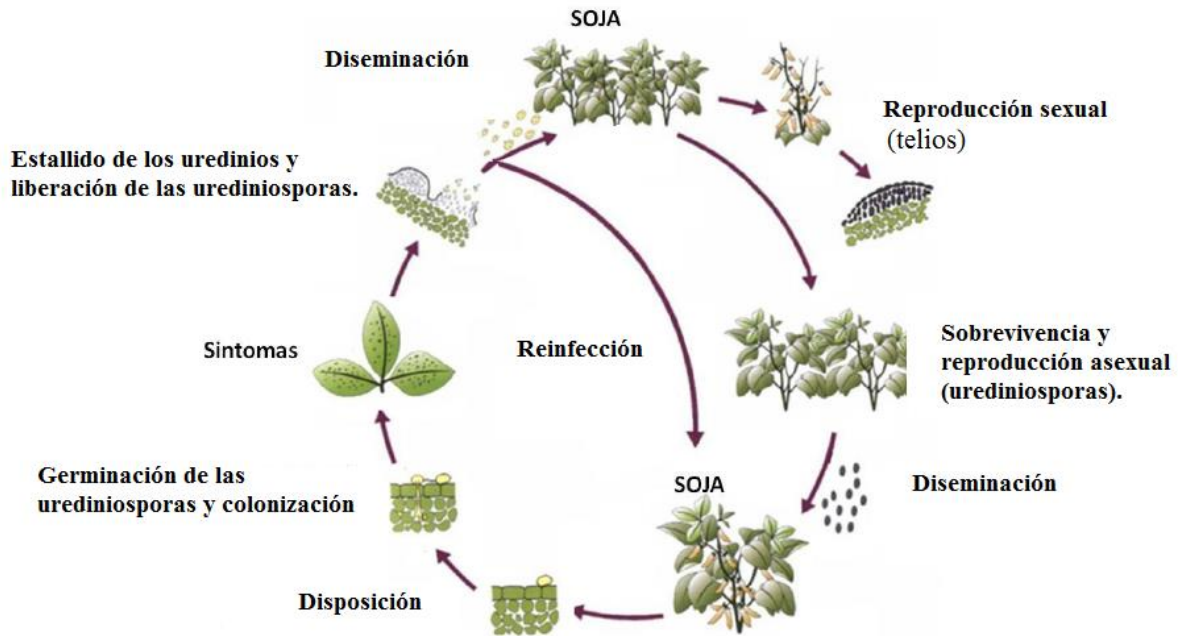


Figura 7. Ciclo esquemático de *Phakopsora pachyrhizi* (Reis *et al.*, 2006; Passini, 2007).

**Síntomas de la enfermedad:** se presentan mayormente en el envés de la hoja (figura 8) y eventualmente en los pecíolos (figura 9 a), tallos (figura 9 b), haz de la hoja (figura 10) y vainas, como lesiones de color amarillo que posteriormente tornan marrón y marrón-rojizo (Killgore, 1995). Los síntomas progresan desde las hojas inferiores hacia las superiores y pueden presentarse en cualquier momento del ciclo del cultivo, aunque se hace más evidente en los estados fenológicos posteriores a floración (Sinclair and Hartman, 1995).

Los síntomas de la RAS pueden confundirse con los de la mancha marrón (*Septoria glycines*) y/o la pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *Glycines*). (Ivancovich y Couretot, 2004).



Figura 8. Síntomas de *P. pachyrhizi* en el envés de la hoja de soja.

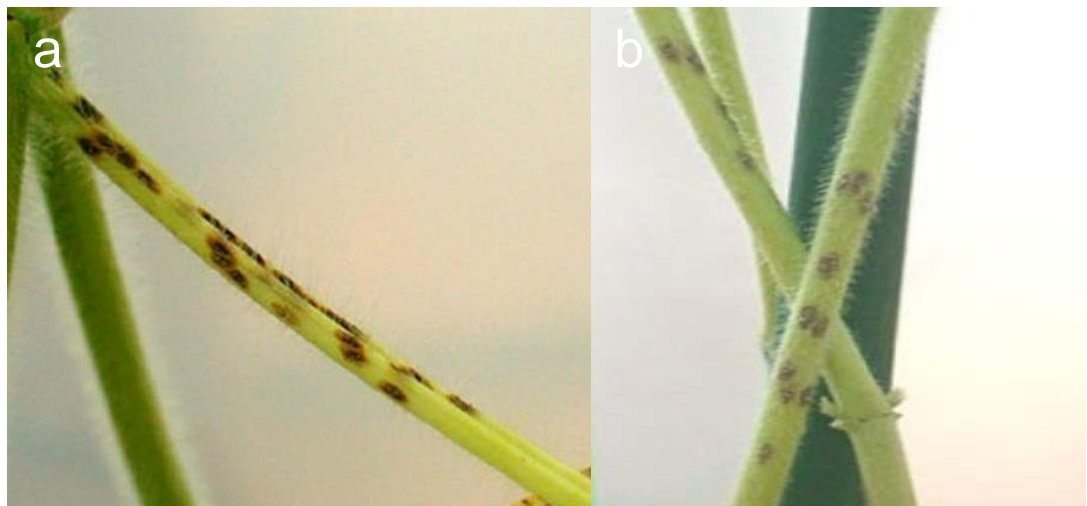


Figura 9. Síntomas de *P. pachyrhizi* en el pecíolo (a) y en el tallo (b) en la planta de soja (USDA-ARS).

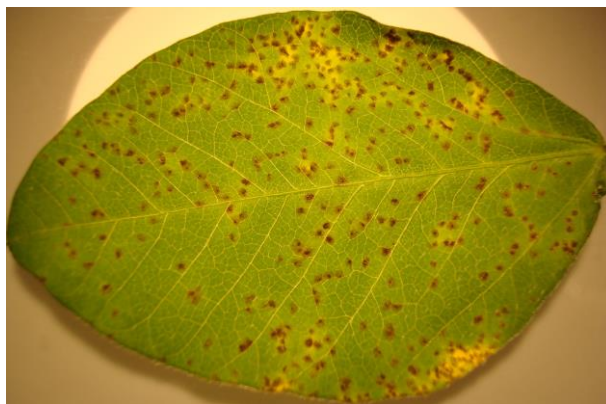


Figura 10. Síntomas de *P. pachyrhizi* en el haz de la hoja de soja.

## VIRULENCIA DE *Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Sydow:

La virulencia patogénica entre los diferentes aislamientos se determina mediante una escala estandarizada provista por Yamaoka, *et al.* en el año 2002 (tabla 2.a y 2.b), la cual se basa en el número de uredinios promedio de 30 lesiones y el nivel de esporulación (tabla 2.b.); de este modo se establece la clase de reacción que se presenta entre las variedades diferenciales (V.D.) y en un determinado aislamiento. Se comparan las reacciones de las V.D. utilizadas para cada aislamiento y de este modo es comprobada la virulencia patogénica (tabla 2.a. y 2.b.).

Un carácter que tiende a no utilizarse más para determinar virulencia entre los diferentes aislamientos de *P. pachyrhizi* es el color de la lesión, pues es un carácter muy variable y hace que sea difícil agrupar todos los fenotipos en un número limitado de tipos de lesiones, tales como RB (resistente) y TAN (Susceptible) (Kato y Yorinori, 2008).

La bibliografía mundial menciona que se ha encontrado diferente virulencia de *P. pachyrhizi*, Yeh *et al.* (1983) identificaron en Taiwán 3 razas de roya de 50 aislamientos evaluados en cinco variedades diferenciales. Además al menos una raza presenta por lo menos tres genes de virulencia (Bromfield, 1981; Bromfield y Melching, 1982). En Japón, mediante variedades diferenciales de soja se han determinado 18 razas de *P. pachyrhizi* en dos inóculos recolectado en el sur y centro de dicho país (Yamaoka *et al.*, 2002). Otros aislamientos en Taiwán mostraron que al interactuar los mismos con las V.D. PI 200492, PI 230970, PI 339871; PI 459025 y PI 462312, presentaron reacción de resistencia (Tschanz *et al.*, 1986). La ocurrencia de genes de virulencia múltiple en *P. pachyrhizi* es inusual porque no hay líneas de soja conocidas que posean más de un gen de resistencia específico. En Argentina todavía no hay información relevante sobre la variabilidad en la virulencia del agente causal de la RAS (Ivancovich *et al.*, 2009).

## HIPÓTESIS

Aislamientos de *P. pachyrhisi* provenientes de diferentes regiones de Argentina presentan variabilidad genética.

## OBJETIVO GENERAL

Caracterizar la posible virulencia de *P. pachyrhisi* agente causal de la RAS en Argentina.

## OBJETIVO ESPECÍFICO

Evaluar la virulencia de *P. pachyrhizi* en Argentina, mediante el uso de variedades diferenciales estandarizadas para la detección de posible variabilidad genética.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En condiciones de laboratorio se evaluó las variaciones patogénicas de *P. pachyrhizi*, mediante el uso de variedades diferenciales de soja.

Obtención del inóculo: se realizó el monitoreo continuo de lotes de soja en diferentes localidades y una vez detectado el patógeno se esperó hasta que las hojas presentaron gran cantidad de urediniosporas. Las hojas de soja infectadas con RAS se recolectaron en las localidades de Cerro Azul (Misiones; 27° 38' 6,18'' S y 55° 29' 52,66'' O) y Ledesma (Jujuy; 23° 50' 2,32'' S y 64° 47' 30,91'' O) entre la primer quincena de abril y Rosario (Santa Fe; 33° 55' 53,11'' S y 60 54' 2,2'' O) y Pergamino (Buenos Aires; 33° 51' 20,20'' S y 60° 34' 29,5'' O) entre la última semana de abril y la primera de mayo. Cada una de esas muestras fueron transportadas desde su lugar de origen hasta el laboratorio de fitopatología del INTA Pergamino en cajas de telgopor para su mejor acondicionamiento (Ivancovich, comunicación personal).

El inóculo se preparó colocando las hojas infectadas con RAS, dentro de un erlenmeyer con 100 ml de agua destilada estéril y dos gotas del surfactante Tween 20 (para separar más fácilmente las urediniosporas de las hojas). Esta suspensión se agitó durante 10–15 minutos y luego se filtró a través de una muselina para eliminar impurezas (figura 11). Posteriormente se cuantificó la concentración de esporas mediante la observación en un microscopio óptico (figura 12.a), utilizando un hematocitómetro (cámara de Neubauer; figura 12.b). Se determinó la viabilidad de las urediniosporas, con el objeto de ajustar la cantidad a utilizar: 50.000 urediniosporas viables/ml de agua (Yamanaka *et al.*, 2010.). La determinación de la viabilidad se efectuó con un microscopio óptico, 24 horas luego de colocar unas gotas de la suspensión (urediniosporas de *P. pachyrhizi* y agua), en una caja de Petri con un medio pobre en nutrientes de agar agua (AA; figura 13). La viabilidad se expresó en porcentaje de urediniosporas germinadas (Ivancovich *et al.*, 2009), para esta experiencia la viabilidad de las esporas fue de 95 %.





Figura 11. Materiales para la preparación del inóculo de *P. pachyrhizi*.

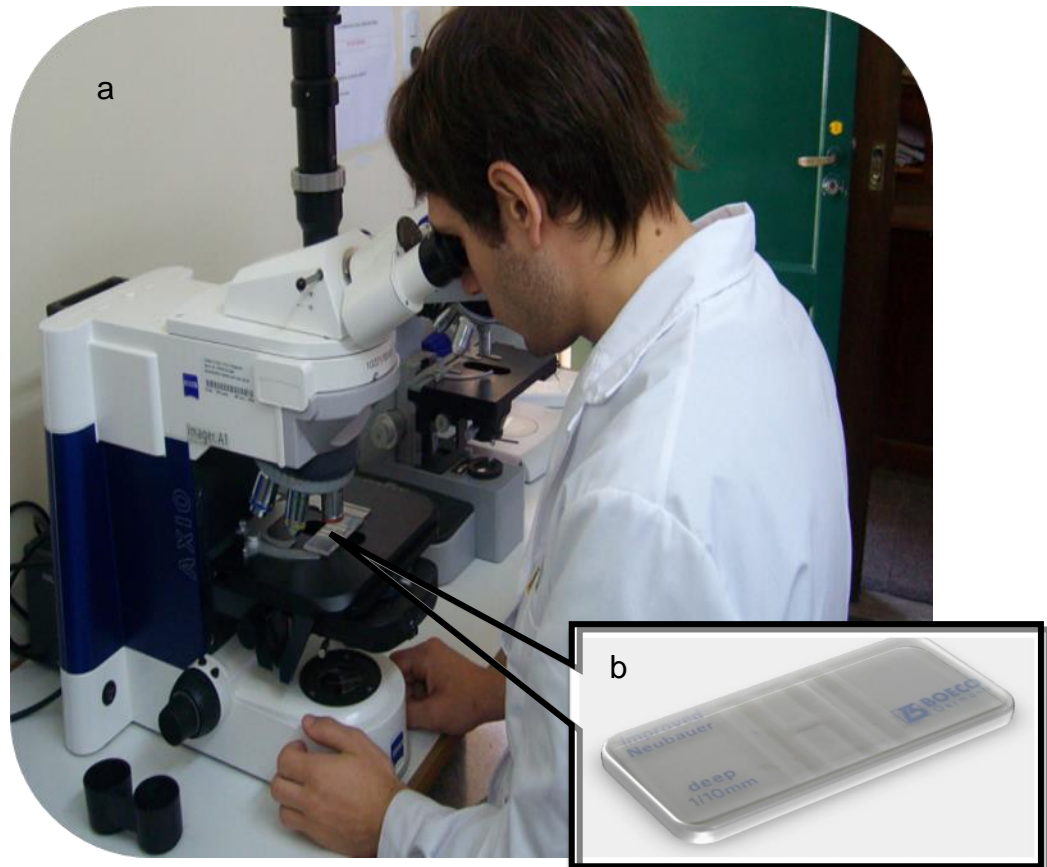


Figura 12. (a) Cuantificación de la concentración de esporas mediante la observación en el microscopio óptico, utilizando un (b) hematocitómetro (cámara de Neubauer).



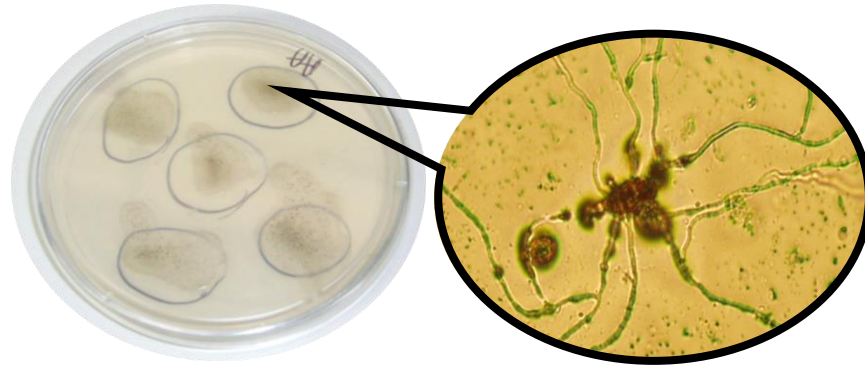


Figura 13. Caja de petri con agar agua y gotas de suspensión de urediniosporas de *P. pachyrhizi* en agua.

Variedades diferenciales: se utilizaron 16 variedades diferenciales (figura 14) provistas por (JIRCAS) de Japón (Tabla 1).

Tabla 1: Variedades diferenciales utilizadas para la identificación de la virulencia de distintos aislamientos de *P. pachyrhizi* (JIRCAS, Japón).

Variedad	Reacción del gen	Referencia
1- PI 200492	Rpp1	Hartwig and Bromfield, 1983.
2- Tainung-4 (PI 368039)	Rpp1	McLean and Byth, 1980.
3- PI 230970	Rpp2	Hartwig and Bromfield, 1983.
4- PI 417125	Rpp2	Laperuta <i>et al.</i> , 2008.
5- PI 462312 (Ankur)	Rpp3	Hartwig and Bromfield, 1983.
6- PI 459025	Rpp4	Hartwig, 1986.
7- Shiranui (PI 200526)	Rpp5	Garcia <i>et al.</i> , 2008.
8- PI 416764	Desconocido	Miles <i>et al.</i> , 2006.
9- PI 587855	Desconocido	Miles <i>et al.</i> , 2006.
10- PI 587880 A	Desconocido	Miles <i>et al.</i> , 2006.
11- PI 587886	Desconocido	Miles <i>et al.</i> , 2006.
12- PI 587905	Desconocido	Miles <i>et al.</i> , 2006.
13- PI 594767 A	Desconocido	Miles <i>et al.</i> , 2006.
14- BRS 154	Desconocido (S)	Susceptible.
15- TK5	Desconocido (S)	Susceptible.
16- Wayne	Desconocido (S)	Susceptible.

Rpp: resistencia a la *Phakopsora pachyrhizi*.



Figura 14. Variedades diferenciales de soja en la cámara de crecimiento.

Obtención de las plantas: se sembraron 16 variedades diferenciales (tres semillas por maceta) utilizando como sustrato tierra de campo, sometidas a una intensidad de luz de 380 y 460  $\mu\text{M}$  de fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , proporcionada por lámparas fluorescentes; a 25 °C de temperatura y un fotoperíodo de 14 hs de luz y 10 hs de oscuridad, para el correcto desarrollo y crecimiento de las variedades diferenciales de soja (Yamanaka *et al.*, 2010). La siembra se realizó cuando se detectaron las primeras urediniosporas de RAS en los campos de las cuatro localidades seleccionadas, para que las variedades diferenciales de soja alcancen el estado fenológico de inoculación  $V_1$  (Fehr *et al.*, 1971). Oportunamente se recolectaron las hojas que ya presentaban abundante cantidad de urediniosporas de RAS en las diferentes localidades y con ellas se inocularon las 16 variedades diferenciales.

Inoculación de las plantas: el inóculo previamente preparado se asperjó sobre las variedades diferenciales ( $V_1$ ) con un aspersor manual. Posteriormente se dejaron todas las plantas inoculadas en cámara húmeda y oscuridad por 24 hs (figura 15), para favorecer el proceso de infección.

Las plantas inoculadas se mantuvieron a 25 °C, fotoperíodo de 14 hs de luz y 10 hs de oscuridad y humedad relativa de 80 % en la noche y 60 % en el día, durante 14 días.



Figura 15. Variedad diferencial inoculada y posteriormente sometida a cámara de oscuridad.

Caracterización de la variabilidad de la virulencia de los aislamientos: luego de 14 días de la inoculación, se analizaron tres folíolos por planta, con una lupa X 100 binocular Will (figura 16). Considerando 30 lesiones/folíolo se cuantificó el número de uredinios por lesión y se obtuvo el promedio.

Los criterios utilizados para la determinación de la virulencia patogénica entre los diferentes aislamientos analizados se muestran en las tablas 2.a y 2 b. (Yorinori, 2008).



Figura 16. Evaluación de la virulencia patogénica de los aislamientos analizados mediante variedades diferenciales en lupa X 100 binocular Will.



Tabla 2.a. Criterios para determinación del nivel de resistencia a roya de la soja (Yamaoka *et al.*, 2002).

Presencia de lesiones	N° de uredinios (promedio de 30 lesiones)	Nivel de esporulación	Clases		
-	0	0	Inmune	I	Resistente
+	0	0	Altamente resistente	AR	
+	$x < 1$	0, 1	Moderadamente resistente	MR	
+	$1 \leq x < 1.5$	0, 1	Levemente resistente	LR	
+	$x < 1.5$	2, 3	Intermedia	IM	Intermedio
+	$1.5 \leq x$	0, 1	Intermedia	IM	
+	$1.5 \leq x < 3$	2, 3	Moderadamente susceptible	MS	Susceptible
+	$3 \leq x$	3	Altamente susceptible	AS	

Tabla 2.b. Tabla estandarizada de la intensidad de esporulación (Yorinori, 2008).



## RESULTADOS

Las variedades diferenciales (V.D.) PI 200492, PI 368039, PI 417125, PI 230970, BRS 154, TK5, Wayne, PI 416764 y PI 587886 fueron susceptibles a todos los aislamientos analizados, lo que indica que estos genes de resistencia se quebraron en Argentina. Para el caso de la V.D. PI 230970 en esta experiencia sólo pudo ser analizado el aislamiento de Pergamino (bajo poder germinativo de las semillas), presentando una reacción de susceptibilidad.

Las V.D. PI 587855, PI 462312 (Ankur) y PI 587905, tuvieron una reacción de resistencia para los aislamientos de Ledesma y Rosario, pero para los aislamientos de Cerro Azul (exceptuando PI 587905, sin dato) y Pergamino la reacción fue de susceptibilidad. Las variedades Shiranui (PI 200526), PI 587880 A y PI 594767A fueron resistentes a la mayoría de los aislamientos ensayados. Las V.D. PI 459025 (Rpp4), PI 200526 (Shiranui) (Rpp5) y PI 416764 fueron resistentes y susceptibles en una proporción similar (Tabla 3). La V.D. PI 417125 presentó una reacción de susceptibilidad para los aislamientos de Pergamino y Rosario, mientras que la reacción fue de resistente para los aislamientos de Ledesma y Cerro Azul.

Los resultados indican diferentes virulencias entre los aislamientos de *P. pachyrhizi* analizados en Argentina para la campaña 2011 – 2012. En los aislamientos de Ledesma y Rosario, siete y ocho de las V.D. respectivamente, tuvieron reacción de susceptibilidad (tabla 3). Frente al aislamiento de Cerro Azul solamente dos del total de las V.D. analizadas presentaron reacción de resistencia, PI 417125 y Shiranui (PI 200526). En el aislamiento de Pergamino también tuvo dos V.D. que presentaron reacción de resistencia, PI 587880 A y PI 594767 A de genes desconocidos.

Las V.D. PI 594767 A y PI 587855 de genes desconocidos, resistente a todos los aislamientos anteriores analizados en Argentina, resultaron ser susceptible al aislamiento de Cerro Azul (Misiones) y la V.D. PI 587855 también presentó reacción de susceptibilidad al aislamiento de Pergamino (Buenos Aires).

Los aislamientos utilizados en esta experiencia presentaron una viabilidad del 95 % para las cuatro localidades analizadas. Este porcentaje tan alto se debe a la metodología de

trabajo utilizada la cual es recolectar las esporas frescas del campo e inocular las variedades diferenciales en un tiempo no mayor a 48 hs de su recolección.

Tabla 3.a: Comparación entre las reacciones de las variedades diferenciales y los aislamientos de las localidades de Ledesma (Jujuy), Cerro Azul (Misiones), Pergamino (Buenos Aires), y Rosario (Santa Fé) – 2012, para detectar virulencia patogénica de *Phakospora pachyrhizi*.

<b>V.D.</b> / Localidad/Provincia	<b>Ledesma Jujuy</b>	<b>Cerro Azul Misiones</b>	<b>Pergamino Buenos Aires</b>	<b>Rosario Santa Fe</b>
1- PI 200492	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
2- Tainung-4 (PI 368039)	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
3- PI 230970 (*)	-	-	-	<b>S</b>
4- PI 417125	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
5- PI 462312 (Ankur)	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>
6- PI 459025 (*)	-	-	-	-
7- Shiranui (PI 200526)	<b>R</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>R</b>
8- PI 416764	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	-
9- PI 587855	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>
10- PI 587880 A	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
11- PI 587886	<b>S</b>	<b>S</b>	-	<b>S</b>
12- PI 587905	<b>R</b>	-	<b>S</b>	<b>R</b>
13- PI 594767 A	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>R</b>
14- BRS 154	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
15-TK5	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
16-Wayne	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>

(-) Sin dato

Tabla 3b.1. Intensidad de esporulación los aislamientos de *P. pachyrhizi* de las diferentes provincias de Argentina sobre la (V.D.) 1- PI 200492 (según Yorinori, 2008).

V.D.	Reacción del gen	Reacción			
		Ledesma Jujuy	Cerro Azul Misiones	Pergamino Buenos Aires	Rosario Santa Fe
1- PI 200492	Rpp1	S	S	S	S





Tabla 3b.2. Intensidad de esporulación los aislamientos de *P. pachyrhizi* de las diferentes provincias de Argentina sobre la (V.D.) Tainung-4 PI 368039 (según Yorinori, 2008).

V.D.	Reacción del gen	Reacción			
		Ledesma Jujuy	Cerro Azul Misiones	Pergamino Buenos Aires	Rosario Santa Fe
2- Tainung-4 (PI 368039)	Rpp1	S	S	S	S

**Ledesma, Jujuy**



**Cerro Azul, Misiones**



**Pergamino, Buenos Aires**



**Rosario, Santa Fe**



Tabla 3b.3. Intensidad de esporulación los aislamientos de *P. pachyrhizi* de las diferentes provincias de Argentina sobre la (V.D.) 3- PI 230970 (según Yorinori, 2008).

V.D.	Reacción del gen	Reacción			
		Ledesma Jujuy	Cerro Azul Misiones	Pergamino Buenos Aires	Rosario Santa Fe
3- PI 230970	Rpp2	-	-	-	S

(-) Sin dato.

#### Rosario, Santa Fe



Tabla 3b.4. Intensidad de esporulación los aislamientos de *P. pachyrhizi* de las diferentes provincias de Argentina sobre la (V.D.) 4- PI 417125 (según Yorinori, 2008).

V.D.	Reacción del gen	Reacción			
		Ledesma Jujuy	Cerro Azul Misiones	Pergamino Buenos Aires	Rosario Santa Fe
4- PI 417125	Rpp2	R	R	S	S



Tabla 3b.5. Intensidad de esporulación los aislamientos de *P. pachyrhizi* de las diferentes provincias de Argentina sobre la (V.D.) 5- PI 462312 Ankur (según Yorinori, 2008).

V.D.	Reacción del gen	Reacción			
		Ledesma Jujuy	Cerro Azul Misiones	Pergamino Buenos Aires	Rosario Santa Fe
5- PI 462312 (Ankur)	Rpp3	R	S	S	R

**Ledesma, Jujuy**



**Cerro Azul, Misiones**



**Pergamino, Buenos Aires**



**Rosario, Santa Fe**



Tabla 3b.6. Intensidad de esporulación los aislamientos de *P. pachyrhizi* de las diferentes provincias de Argentina sobre la (V.D.) 6- PI 459025 (según Yorinori, 2008).

V.D.	Reacción del gen	Reacción			
		Ledesma Jujuy	Cerro Azul Misiones	Pergamino Buenos Aires	Rosario Santa Fe
6- PI 459025	Rpp4	-	-	-	-

(-) Sin dato.

Tabla 3b.7. Intensidad de esporulación los aislamientos de *P. pachyrhizi* de las diferentes provincias de Argentina sobre la (V.D.) 7- Shiranui PI 200526 (según Yorinori, 2008).

V.D.	Reacción del gen	Reacción			
		Ledesma Jujuy	Cerro Azul Misiones	Pergamino Buenos Aires	Rosario Santa Fe
7- Shiranui (PI 200526)	Rpp5	R	R	S	R

**Ledesma, Jujuy**



**Cerro Azul, Misiones**



**Pergamino, Buenos Aires**



**Rosario, Santa Fe**





Tabla 3b.8. Intensidad de esporulación los aislamientos de *P. pachyrhizi* de las diferentes provincias de Argentina sobre la (V.D.) 8- PI 416764 (según Yorinori, 2008).

V.D.	Reacción del gen	Reacción			
		Ledesma Jujuy	Cerro Azul Misiones	Pergamino Buenos Aires	Rosario Santa Fe
8- PI 416764	Desconocido (S)	S	S	S	-

(-) Sin dato.



Tabla 3b.9. Intensidad de esporulación los aislamientos de *P. pachyrhizi* de las diferentes provincias de Argentina sobre la (V.D.) 9- PI 587855 (según Yorinori, 2008).

V.D.	Reacción del gen	Reacción			
		Ledesma Jujuy	Cerro Azul Misiones	Pergamino Buenos Aires	Rosario Santa Fe
9- PI 587855	Desconocido (S)	R	S	S	R





Tabla 3b.10. Intensidad de esporulación los aislamientos de *P. pachyrhizi* de las diferentes provincias de Argentina sobre la (V.D.) 10-PI 587880 A (según Yorinori, 2008).

V.D.	Reacción del gen	Reacción			
		Ledesma Jujuy	Cerro Azul Misiones	Pergamino Buenos Aires	Rosario Santa Fe
10-PI 587880 A	Desconocido(S)	R	S	R	R

**Ledesma, Jujuy**



**Cerro Azul, Misiones**



**Pergamino, Buenos Aires**



**Rosario, Santa Fe**



Tabla 3b.11. Intensidad de esporulación los aislamientos de *P. pachyrhizi* de las diferentes provincias de Argentina sobre la (V.D.) 11-PI 587886 (según Yorinori, 2008).

V.D.	Reacción del gen	Reacción			
		Ledesma Jujuy	Cerro Azul Misiones	Pergamino Buenos Aires	Rosario Santa Fe
11-PI 587886	Desconocido (S)	S	S	-	S

(-) Sin dato.



Tabla 3b.12. Intensidad de esporulación los aislamientos de *P. pachyrhizi* de las diferentes provincias de Argentina sobre la (V.D.) 12-PI 587905 (según Yorinori, 2008).

V.D.	Reacción del gen	Reacción			
		Ledesma Jujuy	Cerro Azul Misiones	Pergamino Buenos Aires	Rosario Santa Fe
12-PI 587905	Desconocido (S)	R	-	S	R

(-) Sin dato.



Tabla 3b.13. Intensidad de esporulación los aislamientos de *P. pachyrhizi* de las diferentes provincias de Argentina sobre la (V.D.) 13-PI 594767 A (según Yorinori, 2008).

Variety	Reacción del gen	Reaction			
		Ledesma Jujuy	Cerro Azul Misiones	Pergamino Buenos Aires	Rosario Santa Fe
13-PI 594767 A	Desconocido (S)	R	S	R	R



Tabla 3b.14. Intensidad de esporulación los aislamientos de *P. pachyrhizi* de las diferentes provincias de Argentina sobre la (V.D.) 14-BRS 154 (según Yorinori, 2008).

V.D.	Reacción del gen	Reacción			
		Ledesma Jujuy	Cerro Azul Misiones	Pergamino Buenos Aires	Rosario Santa Fé
14-BRS 154	Desconocido (S)	S	S	S	S

**Ledesma, Jujuy**

**Cerro Azul, Misiones**

**Pergamino, Buenos Aires**

**Rosario, Santa Fe**

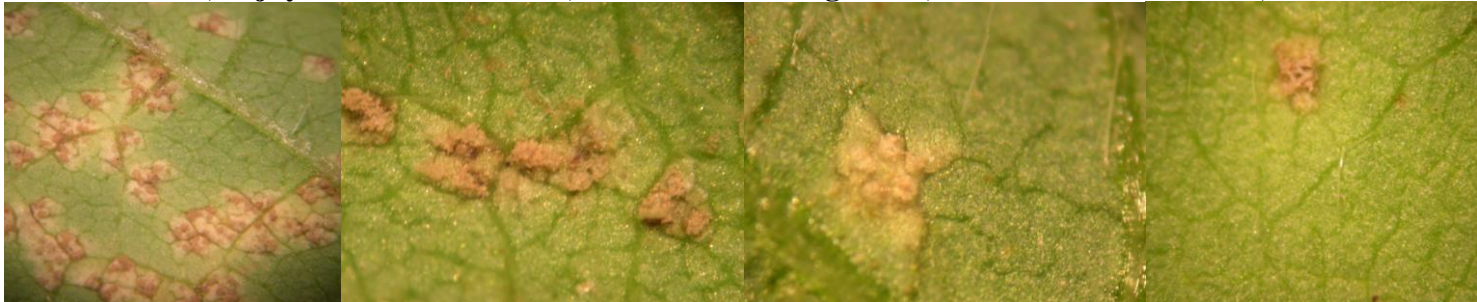




Tabla 3b.15. Intensidad de esporulación los aislamientos de *P. pachyrhizi* de las diferentes provincias de Argentina sobre la (V.D.) 15-TK5 (según Yorinori, 2008).

V.D.	Reacción del gen	Reacción			
		Ledesma Jujuy	Cerro Azul Misiones	Pergamino Buenos Aires	Rosario Santa Fe
15-TK5	Desconocido (S)	S	S	S	S



Tabla 3b.16. Intensidad de esporulación los aislamientos de *P. pachyrhizi* de las diferentes provincias de Argentina sobre la (V.D.) 16- Wayne 200492 (según Yorinori, 2008).

V.D.	Reacción del gen	Reacción			
		Ledesma Jujuy	Cerro Azul Misiones	Pergamino Buenos Aires	Rosario Santa Fe
16- Wayne 200492	Desconocido (S)	S	S	S	S

**Ledesma, Jujuy**



**Cerro Azul, Misiones**



**Pergamino, Buenos Aires**



**Rosario, Santa Fe**



## DISCUSIÓN

La resistencia a *P. pachyrhizi* dentro de las variedades diferenciales (V.D.) está conferida por genes mayores, las variedades de soja que contienen dichos genes e interaccionan con *P. pachyrhizi* inducen a reacciones de oxidación controlada, impidiendo que las esporas de *P. pachyrhizi* infecten los tejidos de las V.D. (Hartwig, 1986; Tan *et al.*, 1991; Kiryowa *et al.*, 2005). En general podemos encontrar dentro de las V.D. cinco genes que confieren resistencia a *P. pachyrhizi* el gen Rpp1 (Mclean y Byth, 1980), el gen Rpp2 (Bromfield y Hartwig, 1980), el gen Rpp3 (Bromfield y Hartwig, 1980; Hartwig y Bromfield, 1983), el gen Rpp4 (Hartwig, 1986) y el gen Rpp5 (Garcia *et al.*, 2008). Pero no todos los genes contribuyen de la misma manera frente a la resistencia de la roya, Giacomini Lemos *et al.* (2011) en su trabajo sugirieron que el locus Rpp5 fue el que más contribuyó para todos los caracteres de resistencia y que puede ser considerado como el principal factor importante para la resistencia. Sin embargo los cultivares que presentan mejor comportamiento frente a *P. pachyrhizi* son aquellos que presentan varios genes de resistencia. Tschanz (1987) sugiere que el uso de genes piramidales y la rotación de los genes, presentan poca probabilidad de ser una solución estable debido a que el patógeno conserva genes de virulencia en una alta frecuencia en su población. Collard y Mackill (2008) con la ayuda de marcadores moleculares pudieron encontrar tres genes piramidales (Rpp5, Rpp4 y Rpp2) en cultivares de soja, lo que contribuiría en gran medida a la búsqueda de cultivares con mejor comportamiento frente a *P. pachyrhizi*.

Jarvie (2009) sugiere que la presencia de múltiples genes de virulencia en la población del patógeno y la falta de varios genes de resistencia en el hospedante, favorecen a que la roya de la soja presente una ventaja competitiva frente al cultivo de soja. El despliegue de los genes individuales específicos para la resistencia es por lo tanto poco probable que sea una estrategia exitosa para el manejo de esta enfermedad. Como un ejemplo de “gen fracaso”, Hartman *et al.* (2005) citaron los trabajos de Bromfield, donde los genes Rpp1, Rpp2 y Rpp3 han perdido su eficacia en el control de la RAS a campo dentro de los 10 años de estudios de interacción patógeno-hospedante. En Taiwán, Shanmugasundaram *et al.* (2004) demostraron que todas las variedades que contienen el



gen Rpp1 se convirtieron en susceptibles a la RAS dentro de pocos años luego de su utilización. Los genotipos PI 230970 y PI 230971 fueron identificados como resistentes en Taiwán, y posteriormente fueron utilizados como progenitores en los cruzamientos para generar una serie de líneas resistentes a la RAS (AGS 181, AGS 182, AGS 183, AGS 229, AGS 233, AGS 240, AGS 244, AGS 247), sin embargo la resistencia a la RAS fue de corta duración. Después de eso las nuevas fuentes de resistencia fueron identificadas en PI 459024, PI 459025 (Rpp4) y PI 339871, pero luego de utilizarlas por algunos años estos cultivares se transformaron en susceptibles a la RAS. Yorinori (2004) experimentó con cultivares que presentaban comportamientos de resistencia para el año 2002 que luego se volvieron susceptibles al ataque de la RAS en 2003. El comportamiento diferente de las variedades diferenciales frente a los aislamientos provenientes de distintas localidades han demostrado variabilidad de *P. pachyrhizi* en Argentina durante el periodo 2011– 2012, lo cual puede relacionarse con los trabajos de Jarvie (2009) y Yorinori (2004), donde la presencia de virulencia y de un amplio pool génico dentro de las poblaciones de RAS, reducen la probabilidad de encontrar un sistema de control a la RAS por medio de la resistencia horizontal con genes mayores.

Yorinori (2008) encontró que la variedad diferencial (V.D.) PI417125 con genes mayores de resistencia (Rpp2), no mostró una clara resistencia frente a los aislamientos asiáticos analizados, hallazgo que coincide con los resultados obtenidos en Argentina para los aislamientos de Ledesma (Jujuy) y Cerro Azul (Misiones). Pero los aislamientos de Pergamino (Buenos Aires) y Rosario (Santa Fe) presentaron reacción de susceptibilidad.

En África occidental la resistencia a la RAS presenta variaciones entre los diferentes genotipos de soja en distintas localidades, señalando la presencia de diversidad en la población del patógeno (Twizeyimana *et al.*, 2008; Tschanz and Shanmugasundaram, 1985). Estudios en la distribución espacial de la RAS en Nigeria, han identificado virulencia de *P. pachyrhizi* en ese país (Twizeyimana *et al.*, 2008). En Uganda esta enfermedad es de gran importancia pues ha provocado altas mermas de rendimiento en el cultivo de soja (18-45%) en las tres principales variedades comerciales Nam 1, 2 Nam y Namsoy 3 (Kawaki *et al.*, 2003), pero no se ha podido encontrar una clara respuesta, tal vez debido a la gran virulencia que presenta *P. pachyrhizi* en el continente africano (Twizeyimana *et al.*, 2009).

Li (2009) detectó alta resistencia en PI200492 contra 3 aislamientos de *P. pachyrhizi* en Mississippi. Por lo tanto, esta variedad diferencial que contiene el gen de resistencia Rpp1 puede ser útil en algunas regiones de Asia y los EE.UU., pero no en Argentina (tabla 3.a).

Yamanaka *et al.* (2010) observaron que para dos aislamientos de Brasil (BRP-1 y BRP-2) las variedades con los genes Rpp2, Rpp3, Rpp4, y Rpp5 y la V. D. PI416764 eran las que mejor comportamiento presentaban frente a diferentes aislamientos de RAS, pero sólo dos de estas variedades la PI459025 (Rpp4) y la Shiranui (Rpp5), fueron resistentes a ambas poblaciones brasileñas. Pero las V.D. con alta tasa de resistencia eran las que sólo contenían el gen Rpp5 (Rpp2Rpp2 Rpp4Rpp4 Rpp5Rpp5) y que la contribución del locus Rpp4 a la resistencia es baja, pero cuando este interacciona los genes Rpp2 o Rpp5 la reacción de resistencia frente a la RAS es mayor (Giacomini Lemos *et al.*, 2011). Sólo dos de los cinco genes principales pueden ser útiles en la resistencia a la roya de la soja en Brasil. Además, las poblaciones brasileñas causaron reacciones más virulentas que las poblaciones japonesas en 13 variedades estándar (Yamanaka *et al.*, 2010).

Ivancovich *et al.* (2011) en sus estudios han identificado variabilidad en la virulencia patogénica de *P. pachyrhizi* en Argentina, encontrando que la V.D. PI 200492 presentó reacción de susceptibilidad a los 14 aislamientos de *P. pachyrhizi* analizados. En este estudio se identificaron cuatro aislamientos más que tuvieron reacción de susceptibilidad a la V.D. PI 200492. Ivancovich *et al.* (2011) también han observado que las V.D. Tainung-4 (PI 368039) y V.D. PI 230970 fueron resistentes a 1 de 9 aislamientos y 2 de 11 aislamientos respectivamente. En este estudio ninguna de las V.D. fue resistente a los 4 aislamientos analizados. En ambas investigaciones se ha observado que la V.D. PI 417125 ha presentado reacción de resistencia frente a algunos aislamientos analizados (2 de 4 Lavilla; 1 de 13 Ivancovich *et al.* 2011). En el caso de la V.D. PI 462312 (Ankur) se han encontrado que los aislamientos de Ledesma (Jujuy) y Rosario (Santa Fé) presentaron reacción de resistencia, lo que se contrapone a las investigaciones de Ivancovich *et al.* (2011) en donde los 13 aislamientos presentaron reacción de susceptibilidad frente a la V.D. PI 462312 (Ankur), sugiriendo la variabilidad del patógeno en Argentina. Las V.D. Shiranui (PI 200526), PI 594767 A, PI 587880 A y PI 587905 fueron las de mejor performance frente a los aislamientos de *P. pachyrhizi* en Argentina. Son las que han

tenido más reacciones de resistencia frente a los diferentes aislamientos analizados (3 de 4, 3 de 4, 3 de 4 y 2 de 3 Lavilla; 9 de 13, 14 de 14, 14 de 15 y 11 de 12 Ivancovich *et al.* 2011). La V.D. PI 416764 fue susceptible a todos los aislamientos analizados en esta investigación, en cambio en los trabajos realizados en diferentes campañas por Ivancovich *et al.* (2011) encontraron 7 de 13 aislamientos resistentes. La V.D. PI 587886 en las investigaciones de Ivancovich *et al.* (2011) presentó reacción de resistencia a 11 aislamientos de 12, pero en los cuatro aislamientos analizados en esta experiencia fue susceptible a 3. En el trabajo de Ivancovich *et al.* (2011) las variedades diferenciales PI 594767 A y PI 587855 de genes desconocidos presentaron reacción de resistencia a todos los aislamientos analizados (14 de 14 y 3 de 3), mientras que en esta investigación presentaron reacción de susceptibilidad frente al aislamiento de Cerro Azul (Misiones) para la V.D. PI 594767 A y para la V.D. PI 587855 en Pergamino (Buenos Aires) y Cerro Azul (Misiones). Las V.D. BRS 154, TK5 y Wayne, son siempre susceptibles y se usan como testigo y en ambas investigaciones sus reacciones fueron de susceptibilidad para todos los aislamientos.

En Argentina en el año 2012 se ha observado que ninguno de los genes que presentan las V.D. estudiadas son completamente resistentes a las poblaciones de *P. pachyrhizi* en el país. Las V.D. de mejor comportamiento frente a la *P. pachyrhizi* en Argentina fueron PI 594767 A, PI 587880 A y Shiranui (PI 200526), aunque son susceptibles al menos a un determinado aislamiento, las V.D. PI 594767 A y PI 587880 A presentaron reacción de susceptibilidad al aislamiento de Cerro Azul (Misiones) y la V.D. Shiranui (PI 200526) presentó reacción de susceptibilidad al aislamiento de Pergamino. Sin embargo para identificar si un aislamiento presenta una reacción de resistencia o susceptibilidad será necesario el uso de por lo menos dos líneas que sean isogénicas para cada gen de resistencia importante y de este modo confirmar la virulencia patogénica en Argentina.

## CONCLUSIONES

En esta experiencia se ha encontrado diferencia en la virulencia de los aislamientos en *P. pachyrhizi*, entre diferentes provincias de Argentina, durante el año 2012.

- Ninguna de las Variedades Diferenciales (VD) fueron resistentes a los cuatro aislamientos analizados.
- Las V.D. PI 417125; PI 462312; Shiranui (PI 200526); PI 587855; PI 587880A; PI 587905 y PI 594767 A fueron resistentes al aislamiento de Ledesma (Jujuy).
- Las V.D. PI 417125, Shiranui (PI 200526) presentaron reacción de resistencia al aislamiento de Cerro Azul (Misiones).
- Las V.D. PI 462312; Shiranui (PI 200526); PI 587855; PI 587880A; PI 587905 y PI 594767A se mostraron resistentes al aislamiento de Rosario (Santa Fé).
- Las V.D. PI 587880A y PI 594767A tuvieron reacción de resistencia frente al aislamiento de Pergamino (Buenos Aires).
- La variedad PI 594767 A de genes desconocidos, fue resistente a todos los aislamientos anteriormente estudiados en el país, pero resultó ser susceptible al aislamiento de Cerro Azul (Misiones).
- La variedad PI 587855 de genes desconocidos, fue resistente a todos los aislamientos anteriormente estudiados en el país, pero resultó ser susceptible a los aislamientos de Cerro Azul (Misiones) y Pergamino (Buenos Aires).

Si bien debe ser más estudiado se ha comprobado el quiebre de la resistencia a *P. pachyrhizi* en Argentina, para los genes presentes en las variedades diferenciales analizadas en esta experiencia.

## BIBLIOGRAFÍA

- Begenisic, F.; Ploper, L.D.; Ivancovich, A. 2004. Roya de la soja: Características de la enfermedad. Documento de Trabajo N° 1, Programa Nacional de la Roya de la Soja.
- Bromfield, K.R. and Hartwig, E.E. 1980. Resistance to soybean rust and mode of resistance. *Crop Science* 20: 254-255.
- Bromfield, K.R. 1981. Differential reaction of some soybean accessions to *Phakopsora pachyrhizi*. *Soybean Rust Newsl.* 4: 2.
- Bromfield, K.R. and Melching, J.S. 1982. Sources of specific resistance to soybean rust. (abstr.) *Phytopathology* 72: 706.
- Bromfield, K.R. 1984. American Phytopathological Society. 65 f (Monograph), St. Paul, M.N.
- CABI: Crop Protection Compendium. GAB International, Wallingford, UK, 200t. 2013. Disponible: <http://www.cabi.org/compendia/cpc/> [Consultado: 9 de enero de 2013].
- Carmona, M.D., Ploper, P., Grijalba, M., Gally D., Barreto, D. 2004. Enfermedades de fin de ciclo del cultivo de soja. Guía para su reconocimiento y manejo, Buenos Aires. 20 pp.
- Collard B.C.Y., Mackill D.J. 2008 Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 363: 557–572.
- Fehr W.R., Caviness C.E., Burnood D.T., Pennington J.S. 1971. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. *Crop Science* 11:929–931.
- Formento, A.N. y Souxa, J. 2004. Hospedantes de la roya asiática de la soja (*Phakopsora pachyrhizi*). INTA-EEA Centro Regional Entre Ríos. N, 29. 10-12 p.
- Frigidi, V. 2005. Informe final de evaluación campaña 2004/2005. (<http://www.sinavimo.gov.ar>).

- Frigidi, V. 2006. Informe final de evaluación campaña 2005/2006. (<http://www.sinavimo.gov.ar>).
- Garcia A., Calvo E.S., Kiihl R.A.S., Haranda A., Hiromoto D.M., Vieira L.G.E. 2008. Molecular mapping of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) resistance genes: discovery of a novel locus and alleles. *Theor. Appl. Genet.* 117:545–553.
- Giacomini Lemos, N., Braccini, L.A., Vilela Abdelnoor, R., Neves de Oliveira, M.C., Suenaga, K., Yamanaka, N. 2011. Characterization of genes Rpp2, Rpp4, and Rpp5 for resistance to soybean rust. Springer Science Business Media B.V. 53–64 p.
- Goellner, K., Loehrer, M., Langenbach, C., Conrath, U., Koch, E., Schaffrath, U. 2010. *Phakopsora pachyrhizi*, the causal agent of Asian soybean rust. *Molecular Plant Pathology*, v. 11, n. 2, 169 – 177 p.
- Hartwig, E.E. and Bromfield, K.R. 1983. Relationship among three genes conferring specific resistance to rust in soybeans. *Crop Science* 23:237-239.
- Hartwig, E.E. 1986. Identification of a fourth gene conferring resistance to soybean rust. *Crop Science* 26: 1135 – 1136.
- Hartman G.L., Miles M.R. and Frederick R.D. 2005. Historical viewpoint and soybean resistance to soybean rust. In: Proceedings of the 2005 Illinois Crop Protection Conference, 16–20 p.
- Henning, A.A. y Godoy, C.V. 2006. Situacao da ferrugem da soja no Brasil e no mundo. In: Zambolin, I. (Ed.). Ferrugem asiática da soja. Vicosa, MG: Suprema, 139 pp.
- Hernández J.R. 2004. Invasive Fungi. Asian soybean rust. Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Disponible en: <http://nt.ars-grin.gov/sbmlweb/fungi/>.
- Ivancovich, A. y Botta, G. 2002. La roya de la soja en la Argentina. EEA Pergamino. Pergamino Revista de Tecnología Agropecuaria. Diciembre 2002.
- Ivancovich, A. 2003. “Soybean rust situation in Argentina”. Symposium Soybean Rust: Too close for confort. Annual Meeting of the American Phythopatological Society. Charlotte, Nort Carolina. USA.

- Ivancovich, A., Botta, G., Vallone, S., Salines, L., Formento, N., Gadban, L., Bonacic, I., De Souza, J., Guerra, G., Guillin, E., Cracogna, M. y Lago, M. 2004. Prevención y control de la Roya de la Soja en Argentina. Buenos Aires. INTA., 4 pp.
- Ivancovich, A. y Couretot, L. 2008. Roya de la soja. En: Taller de diagnóstico y manejo de enfermedades de soja. Pergamino: Estación Experimental Agropecuaria, 11 – 13 p.
- Ivancovich, A. 2009. Soybean Rust in Argentina. In: World Soybean Conference Research. In VIII. Developing a Global Soy Blueprint for a Safe Secure and Sustainable Supply. Beijing. 2009, 92 p.
- Ivancovich, A., Russian, H., Yamaoka, A., Yamanaka, N., and Suenaga, K. 2009. Preliminary research on pathogenic variations of Asian Soybean Rust in Argentina. In: VIII World Soybean Conference Research. Developing a Global Soy Blueprint for a Safe Secure and Sustainable Supply. Beijing, 2009. 92 p.
- Ivancovich, A., Russian, H., Yamaoka, Y., Yamanaka, N. y Suenaga, K. 2011. Variación patogénica del agente causal de la roya de la soja en Argentina. En: 2° Congreso Argentino de Fitopatología. Mar del Plata, Argentina, 2011. Libro de resúmenes. Buenos Aires, AAF. 207 p.
- Jarvie, J.A. 2009. A review of soybean rust from a South African perspective. South African Journal of Science 105. 103 – 108 p.
- Kantolic, A.G., Giménez, P.I., De la Fuente, E.B. 2005. Producción de granos: bases funcionales para su manejo. Buenos Aires: Editorial Facultad de Agronomía, 783 p.
- Kato M., Yorinori J.T. 2008. A study on a race composition of *Phakopsora pachyrhizi* in Brazil: a difficulty of race identification. In: Kudo H., Suenaga K., Soares R.M., Toledo A. (Eds.) JIRCAS Working Report No. 58. Tsukuba Japan. JIRCAS. 94–98 pp.
- Kawaki, R.S., Adipala, E., Tukamuhabwa, P. 2003. Yield loss associated with soya bean rust (*Phakopsora pachyrhizi* Syd). In: Uganda. Journal of Phytopathology. Hamburg, v. 151, n. 1, 7 – 12 p.

- Killgore, E.M., Heu, R., Gardner, D.E. 1994. First report of soybean rust in Hawaii. *Plant Dis.* 78. 1216 p.
- Killgore, E.M. 1995. Field Notes on the Detection of Soybean Rust, Initial Surveys and the Current Status of the Disease in Hawaii. Plant Pathology Quarantine Facility. Biological Control Section, Plant Pest Control Branch, Department of Agriculture, Honolulu, HI. Soybean Rust Workshop, 38 – 45 p.
- Kiryowa, M., Tukamuhabwa, P. and Adipala, E. 2005. Inheritance of resistance to soybean rust; *Phakopsora pachyrhizi*. African Crop Science Society Conference Proceedings 7:257-260.
- Laperuta, L.D.C., Arias C.A.A., Ribeiro A.S., Rachid B.F., Pierozzi P.H.B., Toledo J.F.F., Pípolo A.E., Carneiro G.E.S. 2008. New genes conferring resistance to Asian soybean rust: allelic testing for the *Rpp2* and *Rpp4* loci. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 43:1741–1747.
- Li, S. 2009. Reaction of soybean rust-resistant lines identified in Paraguay to Mississippi isolates of *Phakopsora pachyrhizi*. *Crop Science* 49:887–894.
- Marchetti, M.A., Melching, J.S., and Bromfield, K. R. 1976. The effect of temperature and dew period on germination and infection by urediniospores of *Phakopsora pachyrhizi*. *Phytopathology* 66: 461 – 463.
- Mclean, R.J. and Byth, D.E. 1980. Inheritance of resistance to rust *Phakopsora pachyrhizi* in soybeans. *Australian Journal of Agricultural Research* 31:951-956.
- Miles R. M., Levy G. and Hartman, G. L. 2004. Summary of the USDA fungicide efficacy trials to control soybean rust in Zimbabwe 2003- 2004. *Integrated Pest Management Reviews*.
- Miles, M. R., Frederick, R. D., and Hartman, G. L. 2006. Evaluation of soybean germplasm for resistance to *Phakopsora pachyrhizi*. Online. *Plant Health Progress* doi: 10.1094/PHP-2006-0104-01-RS.
- Ono, Y., Buriticá, P. and Hennen, J.F. 1992. Delimitation of *Phakopsora*, *Physopella* and *Cerotelium* and their species on Leguminosae. *Mycological Research* 96: 825-850.



- Passini, F.B. 2007. Ferregum asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) da soja (*Glycine max*) na cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris*). Dissertação de Maestrado – Universidade Estadual de Ponta Grossa.
- Pivonia, S.; Yang, X. B. 2004. Assessment of the potential year-round establishment of soybean rust throughout the world. *Plant Disease* 88: 523-525.
- Ploper, D.L. y Devani, R.M. 2002. La roya de la soja: Principales aspectos de la enfermedad y consideraciones sobre su manejo. *Soja en siembra directa*. Octubre 2002. 51-55 p.
- Reis, E.M., Bresolin, A.C.R., Carmona, M. 2006. Doenças da soja. In: *Ferregum asiática*. Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo. 48 pp.
- Rossi, R.L. 2003. First report of *Phakopsora pachyrhizi*, the causal organism of soybean rust in the Province of Misiones, Argentina. *Plant Disease* 87: 102.
- Saksirirat, W. y Hoppe, H.H. 1991. Teliospore germination of soybean rust fungus (*Phakopsora pachyrhizi* Syd). *Journal of Phytopathology* 132: 330 – 342.
- Secretaria de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. Argentina. Dirección de Coordinación de Delegaciones. 2012. Disponible en: [http://www.siaa.gov.ar/estimaciones\\_agricolas/02](http://www.siaa.gov.ar/estimaciones_agricolas/02).
- Shanmugasundaram S., Yan, M.R. and Wang T.C. 2004. Soybean rust in Taiwan. In *Proceedings of the VII World Soybean Research Conference*, Eds. Moscardi F., Hoffmann-Campo C.B., Saraiva O.F., Galerani P.R., Krzyzanowski F.C. and Carrão-Panizzi M.C., Embrapa, Londrina. 365-368 p.
- Sinclair, J.B. and Backman, P.A. (Eds) 1989. *Compendium of Soybean Diseases*, 3<sup>rd</sup> ed., APS Press, Inc. St. Paul, MN, 106 pp.
- Sinclair, J.B. and Hartman, G.L. (Eds.) 1995. *Proceedings of the Soybean Rust Workshop*. National Soybean Research Laboratory Publication N° 1, Urbana, Illinois.
- Tan, Y.J., Sun, Y.L. and Shan, Z.H. 1991. Inheritance of resistance to soybean rust. *Soybean Science* 2: 104-109.
- Tremblay, A., Hosseini, P., Alkharouf, N.W., Li, S.; Matthews, B.F. 2010. Transcriptome analysis of a compatible response by *Glycine max* to *Phakopsora pachyrhizi* infection. *Plant Science* 179: 183-193.

- Tschanz, A. T., and Shanmugasundaram, S. 1985. Soybean rust. In: Proceedings of the 3rd World Soybean Research Conference. Eds. R. Shibles, Ames, I.A. 562-567 p.
- Tschanz, A.T., Wang, T.C., and Tsai, B.Y. 1986. Recent advances in soybean rust research at Asian Vegetable Research and Development Center. In: Soybean in Tropical and Subtropical Cropping Systems. Eds. S. Shanmugasundaram and E.W. Sulzberger, Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Tainan, Taiwan 237 – 245 p.
- Tschanz A.T. 1987. Soybean Rust Epidemiology – Final Report. Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, Taiwan.
- Twizeyimana, M., Ojiambo, P. S., Ikotun, T., Ladipo, J.L., Hartman, G.L., and Bandyopadhyay, R. 2008. Evaluation of soybean germplasm for resistance to soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in Nigeria. Plant Dis. 92: 947-952.
- Twizeyimana, M., Ojiambo, P.S., Ikotun, T., Ladipo, J.L., Hartman, G.L., and Bandyopadhyay, R. 2009. Pathogenic Variation of *Phakopsora pachyrhizi* Infecting Soybean in Nigeria. The American Phytopathological Society 99: 353-361.
- USDA, 2012. Production, Supply and Distribution. Disponible en: <http://www.fas.usda.gov/psdonline/>. [consultado: 24/05/12].
- Yamaoka Y., Fujiwara Y., Kakishima M., Katsuya K., Yamada K., Hagiwara H. 2002. Pathogenic races of *Phakopsora pachyrhizi* on soybean and wild host plants collected in Japan. Journal of General Plant Pathology 68: 52–56.
- Yamanaka, N., Yamaoka, Y, Kato, M., Lemos. N.G., Passianotto, A.L., Dos Santos, J., V.M., Benitez, E.R., Abdelnoor, R.V., Soares, R.M. & Kazuhiro Suenaga. 2010. Development of classification criteria for resistance to soybean rust and differences in virulence among Japanese and Brazilian rust populations. Tropical Plant Pathology 35: 153-162.
- Yang, X.B., Dowler, W.M., and Tschanz, A.T., and Wang, T.C. 1992. Comparing the effects of soybean rust on plot yield, plant yield, direct and indirect yield components. Journal of Phytopathology 136: 46 – 56.

- Yang, X.B. 2003. Current Status of Soybean Rust in Asian Continent. Primer Workshop Panamericano de la Roya de la Soja. BASF. Misiones, Argentina.
- Yeh, C.C., Siclair, J.B., and Tschanz, A.T. 1982. *Pakopsora pachyrhizi*: Uredial development, urediospore production and factors affecting teliospores formation on soybeans. Aust. Journal of Agricultural Research. 33: 25 – 31.
- Yeh, C.C, Tschanz, A.T., and Siclair, J.B. 1983. Physiological races of *Pakopsora pachyrhizi* in Taiwán. Journal of Agricultural Research (China) 32: 69 -74.
- Yorinori, J.T. 2002. Ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*): ocorrência no Brasil estratégias de manejo. In: II Encontro Brasileiro sobre Doenças da Cultura da Soja, Resumos de palestras, pp. 47-54, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brazil.
- Yorinori J.T. 2004. Country report and rust control strategies. In Proceedings of the VII World Soybean Research Conference, Eds. F. Moscardi, C.B Hoffmann Campo, O.F. Saraiva, P.R. Galerani, F.C. Krzyzanowski and M.C. Carrão Panizzi, Embrapa, Londrina. 447–455 p.
- Yorinori, J.T. 2008. Soybean germplasms with resistance and tolerance to Asian rust and screening method. In: Kudo H, Suenaga K, Soares RM, Toledo A (Eds.) JIRCAS Working Report No. 58. Tsukuba Japan. JIRCAS: 70–87.