

MAYO 2024 N°17

BOLETÍN DE LA ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FITOPATÓLOGOS

ISSN: 2618-1932



TIZÓN FOLIAR POR *Cercospora* Y MANCHA PÚRPURA DE LA
SEMILLA DE SOJA: UN DESAFÍO PERMANENTE



TIZÓN FOLIAR POR *Cercospora* Y MANCHA PÚRPURA DE LA SEMILLA DE SOJA: UN DESAFÍO PERMANENTE

Sautua F.S.¹, Perez Pizá M.C.^{1,2}, Scandiani M.M.³, Carmona M.A.^{1*}
(Capítulo Buenos Aires)

1 Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Cátedra de Fitopatología, Av. San Martín 4453, C1417DSE, Buenos Aires, Argentina. 2 Laboratorio de Biología Funcional y Biotecnología (BIOLAB), Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Biotecnología (INBIOTEC), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Buenos Aires, Argentina. 3 Universidad Nacional de Rosario, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Centro de Referencia de Micología (CEREMIC), Rosario, Santa Fe, Argentina.

Contacto: carmonam@agro.uba.ar

RESUMEN

El tizón de la hoja (TH) y la mancha púrpura de la semilla de soja (MPS) son enfermedades importantes de la soja responsables de pérdidas de rendimiento significativas. Estas enfermedades son causadas por especies de *Cercospora*, como *C. kikuchii* y *C. cf. flagellaris*, entre las principales. Estos patógenos sobreviven en restos culturales infestados y semillas infectadas. Debido a la combinación de siembra directa, monocultivo y cambios climáticos, ambas se han vuelto prevalentes y con elevados niveles de intensidad. Adicionalmente, en la actualidad, hay una escasez de variedades de soja con resistencia genética a ellas. Por este motivo, la aplicación de fungicidas se ha convertido en una herramienta fundamental para el manejo eficaz de este patosistema. Sin embargo, en los principales países productores de soja, la resistencia a los fungicidas inhibidores de la quinona externa y bencimidazoles ya ha sido documentada. Asimismo, se ha propuesto que *Cercospora* spp. es naturalmente insensible a los inhibidores de la enzima succinato deshidrogenasa. En consecuencia, existe un interés creciente en desarrollar herramientas innovadoras para el manejo integrado de estas enfermedades. Estos nuevos enfoques incluyen el uso de biofungicidas, bioestimulantes e inductores de defensas naturales de las plantas, entre otros. Las investigaciones sobre herramientas de manejo complementarias e integradas implican un desafío a corto plazo para mejorar el manejo del TH/MPS. Esta revisión proporciona una breve descripción del conocimiento actual sobre este patosistema y su manejo.

SÍNTOMAS Y SIGNOS DEL TIZÓN DE LA HOJA Y MANCHA PÚRPURA DE LA SEMILLA

El tizón de la hoja (TH) y la mancha púrpura de la semilla de soja (MPS) son enfermedades importantes de la soja (*Glycine max*). De hecho, ambas pueden considerarse como dos manifestaciones de una misma enfermedad, causadas por varias especies de hongos hemibiotróficos del género *Cercospora*. Los síntomas de la MPS se manifiestan como manchas irregulares en las

semillas que varían en color, del rosa claro al violeta oscuro. Estas manchas pueden variar en tamaño, desde pequeñas lesiones hasta cubrir toda la superficie de la testa de la semilla, acompañadas ocasionalmente de agrietamiento del tegumento. Por su parte, una vez infectadas las vainas, el patógeno coloniza sus tejidos y posteriormente infecta las semillas en desarrollo (Figura



1A-B). La MPS es agrónomicamente importante porque reduce el valor comercial, la calidad y el vigor de la semilla (Lee et al., 2015). Sin embargo, no afecta significativamente el porcentaje de germinación de las semillas, el stand de plantas logradas o altura de la planta (Sautua, 2021).

En hojas de soja, el tizón se caracteriza por tejido necrótico y coloración púrpura (Ward et al., 2015) (Figura 1C-D). Debido a estos síntomas, tradicionalmente se ha conocido la enfermedad como tizón morado de la soja. Sin embargo, Sautua (2021) en Argentina, observó la presencia de *Cercospora* spp. en hojas con síntomas similares a los de la mancha marrón de la soja, causada por *Septoria glycines* (Figura 1E-F). Estos resultados se alinearon con los hallazgos de Silva et al. (2018) en EE.UU., quienes observaron niveles más altos de cercosporina y de biomasa de *C. cf. flagellaris* en hojas que exhibían síntomas de tizón foliar, en comparación con aquellas con síntomas morados de TH. Estos investigadores encontraron que la concentración de cercosporina en las hojas moradas era tres veces menor que en las con síntomas de tizón, lo que sugiere que los niveles de esta toxina no cambian el color de las hojas a púrpura, sino que causan necrosis y tizón foliar. Adicionalmente, su investigación incluyó la cuantificación de clorofila a y b y carotenoides totales, indicando que las hojas necrosadas presentaban signos de estrés fotooxidativo, a diferencia de las hojas moradas o asintomáticas, donde este estrés no estaba presente. Asimismo, estos investigadores encontraron niveles más altos de la fitoalexina cumestrol asociados a los síntomas morados. Dado que esta molécula tiene una fuerte actividad antioxidante, Silva et al. (2018) proponen que el síntoma violeta del TH sea más probablemente una reacción de defensa al patógeno. Al mismo tiempo, su análisis reveló que el cumestrol estaba restringido a las

regiones pigmentadas de las hojas de color púrpura, predominantemente en las superficies adaxiales, lo que sugiere que el cumestrol puede funcionar como una forma de "protector solar". Aunque el cumestrol puede no exhibir una actividad antifúngica significativa, el aumento de la concentración de este compuesto en las hojas moradas sugiere la activación de la vía de los fenilpropanoides. Esta activación da como resultado, en última instancia, la producción de clases de flavonoides con una sólida actividad antioxidante. Por lo tanto, aunque el cumestrol se asocia con el síntoma de la hoja morada, no es la causa directa de la coloración, ya que el cumestrol es incoloro. La coloración púrpura de las hojas afectadas por *Cercospora* probablemente sea el resultado de una reacción al estrés oxidativo inducido por la cercosporina. Además, estos investigadores han descubierto moléculas adicionales relacionadas con los síntomas morados, aunque aún no han sido identificadas. En consecuencia, la manifestación específica de la enfermedad causada por *Cercospora* spp. se caracterizaría como tizón foliar marcado por necrosis. Los investigadores también plantean la hipótesis de que la coloración púrpura puede ser una respuesta al estrés, lo que resulta en la producción de derivados de pterocarpina (derivados de isoflavonoides que se encuentran en la familia *Fabaceae*), una reacción típica al estrés tanto biótico como abiótico. Si la producción de biomasa del patógeno y los niveles de cercosporina superan la capacidad antioxidante de la planta, se manifestarían síntomas como clorosis y necrosis. Como las investigaciones existentes aún no son concluyentes, son necesarios más análisis para caracterizar exhaustivamente el nuevo síntoma. No obstante, el conocimiento generado hasta ahora representa una contribución significativa para abordar y clarificar este importante aspecto.

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE ESPECIES DE *Cercospora*

Los análisis moleculares realizados por varios grupos de investigación sugieren que existe una especiación críptica entre los patógenos responsables de TH/MPS (Groenewald et al., 2013; Bakhshi et al., 2015, 2021; Soares et al., 2015; Albu et al., 2016a; Guillin et al., 2017; Sautua et al., 2020a; Shrestha et al., 2024). Algunos aislados parecen representar especies de *Cercospora* aún no descritas. Se realizaron análisis filogenéticos en Argentina, Brasil y EE. UU. utilizando análisis multilocus, incluyendo diferentes loci

combinados de diferentes maneras en cada análisis, tales como: cfp (proteína facilitadora de cercosporina), tub2 (β -tubulina), tef1 (factor de alargamiento de la traducción 1-alfa), actA (actina), cmdA (calmodulina), his3 (histona H3), gapdh (gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa), cyb (citocromo b) y genes de tipo de apareamiento específicos de *Cercospora* (MAT). Estos estudios permitieron la identificación a nivel de especie de la gran mayoría de los aislados estudiados como agentes causales o asociados con TH/MPS. En Argentina



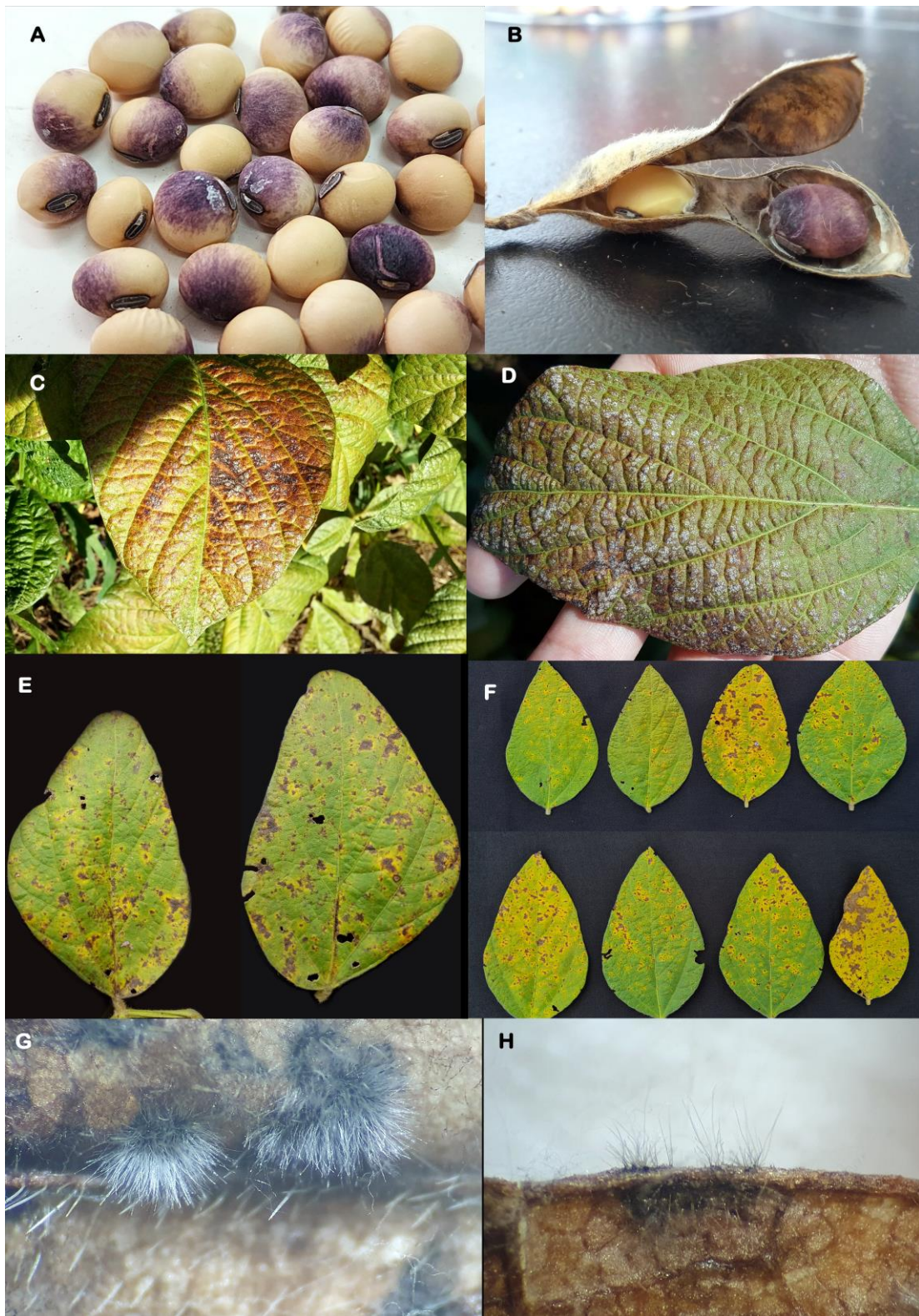


Figura 1. Síntomas del tizón foliar y la mancha púrpura de la semilla de soja, causadas por *Cercospora*. A-B) semillas que presentan síntomas que van desde manchas irregulares de color rosa claro a violeta oscuro, acompañadas de agrietamiento del tegumento. C-D) Síntomas en las hojas, caracterizados por tizón y una marcada coloración violeta. E-F) Hojas de soja que manifiestan síntomas similares a la enfermedad de la mancha marrón (causada por *Septoria glycines*), pero causadas por *Cercospora* spp. G-H) Esporulación asexual del patógeno, con grupos de conidióforos emergiendo del tejido infectado y conidios desarrollándose a partir de conidióforos libres.



y Brasil, *C. kikuchii* es el agente causal predominante de TH/MPS (Soares et al., 2015; Sautua et al., 2020a). También se han identificado otras especies, como *Cercospora cf. nicotianae* (Sautua et al., 2020b). Por otro lado, en EE.UU., Albu et al. (2016a) determinaron que dos especies, *C. cf. flagellaris* (200 de 205 aislados) y *C. cf. sigesbeckiae* (cinco de 205 aislados), están asociadas con TH/MPS. Recientemente, Shrestha et al. (2024) validaron estos hallazgos mediante un análisis extenso que involucró una población de 620 aislados de *Cercospora*.

Para mejorar la caracterización molecular es imperativo profundizar en la variabilidad genética de los aislados a

nivel genómico. Un primer borrador inicial del genoma de la especie *C. kikuchii* se ensambló mediante la secuenciación de una cepa de referencia aislada en la provincia de Buenos Aires, Argentina (Sautua et al., 2019a). Luego, se ensambló en Japón un segundo genoma de *C. kikuchii* a nivel cromosómico de alta calidad (Kashiwa and Suzuki, 2021a). El ensamblaje del genoma de 9 contigs fue de 34,44 Mb, incluidos 242 genes de efectores predichos. El conjunto de genomas proporciona información clave sobre la genética de especies importantes de *Cercospora*, sentando las bases para futuros estudios.

FACTORES DE PATOGENICIDAD DE LAS ESPECIES DE *Cercospora*

Varias especies de *Cercospora* producen cercosporina, toxina que desempeña un papel importante en la patogenicidad, la virulencia y la expresión de síntomas de TH/MPS (Upchurch et al., 1991). Esta molécula puede causar peroxidación lipídica de la membrana citoplasmática de la célula, lo que lleva a la lisis y posterior muerte de los tejidos del hospedante (Daub and Ehrenshaft, 2000). Daub and Chung (2007) plantearon la hipótesis de que el daño de la membrana conduce a la fuga de nutrientes hacia los espacios intercelulares de los tejidos foliares, promoviendo así el crecimiento y la propagación de las hifas fúngicas y esporulación de *Cercospora*. La biosíntesis de cercosporina sigue la vía policétida del metabolismo secundario en los hongos Ascomycota. La toxina se sintetiza en una serie de pasos que involucran varias enzimas (Chen et al., 2007; de Jonge et al., 2018). Estas enzimas están codificadas en el cluster de genes de biosíntesis de cercosporina (CTB). Este grupo está altamente conservado entre las especies de *Cercospora*. Sautua (2021) analizó aislados de *C. kikuchii*, *C. sojina*, *C. nicotianae* y *C. beticola* y comparó todos los genes del grupo CTB encontrando que el cluster está altamente conservado para las especies estudiadas. Además, el CTB está presente en otras especies de hongos fitopatógenos más allá del género *Cercospora*, como *Colletotrichum* (de Jonge et al., 2018). En la especie *C. beticola*, ampliamente

estudiada, se han identificado una variedad de toxinas, incluidas las beticolinas, una familia de moléculas policíclicas no peptídicas conocidas como toxinas formadoras de canales iónicos (Rangel et al., 2020). Por lo tanto, se necesitan más investigaciones para explorar la posible existencia de toxinas adicionales en las especies de *Cercospora* responsables de TH/MPS.

Hay pocos efectores conocidos para especies del género *Cercospora*. Al secuenciar el genoma de *C. sojina* raza 1 de China, Luo et al. (2018) identificaron aproximadamente 750 proteínas secretadas, incluidos 141 supuestos efectores patógenos. Más recientemente, Kashiwa and Suzuki (2021) predijeron varios genes candidatos relacionados con la patogenicidad, incluidos 242 genes de potenciales efectores predichos en *C. kikuchii*. Los genes de los cinco efectores NIS1, AVR4, Nip1, CB0940_10646 y Cs_07324 fueron identificados en los genomas de *C. kikuchii* ARG_18_001 y *C. sojina* raza 11 (Sautua, 2021). Las secuencias de estos genes se compararon para las especies *C. kikuchii*, *C. cf. sigesbeckiae*, *C. cf. flagellaris*, *C. nicotianae*, *C. sojina*, *C. beticola*, *C. brassicicola* y *C. zeina*. Los alineamientos de los cinco efectores examinados revelaron que las secuencias de aminoácidos en estas especies fitopatógenas de *Cercospora* se encuentran conservadas.

OTROS HOSPEDANTES DE *Cercospora*

Las especies del género *Cercospora* que son agentes causantes de TH/MPS, tienen la capacidad de infectar un amplio rango de hospedantes (McLean and Roy, 1988;

Borges et al., 2018). Borges et al. (2018) reportaron la detección de estas especies de *Cercospora* en al menos 21 malezas de Brasil y Estados Unidos. En Argentina, Sautua



et al. (2020a) y Sautua (2021) confirmaron la presencia de especies de *Cercospora* que infectan *Amaranthus hybridus* y *Araujia hortorum*; las pruebas de patogenicidad verificaron la capacidad de estas especies para infectar plantas de soja. Hsieh et al. (2020) encontraron cepas patógenas de *C. kikuchii* aisladas como endófitos de hojas asintomáticas de *Platostoma palustre*. *C. cf. flagellaris* fue

reportada infectando plantaciones comerciales de *Cannabis sativa* para uso medicinal en EE. UU, (Doyle et al., 2019), melón en Corea del Sur (Park et al., 2020), okra (*Abelmoschus esculentus*) en China (Chai et al., 2021) y, en poroto (*Phaseolus vulgaris*) y caupí (*Vigna unguiculata*) en Irán (Bakhshi et al., 2021).

CICLO DE LA ENFERMEDAD Y EPIDEMIOLOGÍA DEL TIZÓN DE LA HOJA Y MANCHA DE PÚRPURA DE LA SEMILLA

Las especies de *Cercospora* sobreviven durante largos períodos de tiempo en semillas y residuos de cultivos (rastros) en el campo, siendo las principales fuentes de inóculo primario. El patógeno puede ser transmitido por semillas infectadas, tanto sintomáticas como asintomáticas, con diferentes tasas de transmisión (Imazaki et al., 2007). Las enfermedades de fin de ciclo de soja (EFC) requieren la energía cinética de las salpicaduras de agua de lluvia para la dispersión de esporas debido a sus cuerpos fructíferos hidrófilos (Carmona et al., 2011). A diferencia de otros patógenos causantes de EFC, las especies de *Cercospora* no requieren agua para su dispersión, ya que sus conidios (consideradas esporas secas) se forman en conidióforos libres y se dispersan con el viento (Figura 1G-H) (Galagedara et al., 2020). En este caso, la dispersión se produce a distancias cortas debido al gran tamaño y peso de los conidios. Una vez depositados o inoculados los conidios en la superficie del hospedante, estos patógenos requieren agua libre (mojado) para poder completar los procesos de germinación, penetración y establecimiento de la relación de parasitismo dentro del hospedante (infección). La combinación de una alta humedad relativa (más del 90%), temperaturas entre 20 y 30°C con un óptimo de 25°C y varias horas de mojado (más de 18 h) crea condiciones que favorecen la infección

(Schuh, 1991). Esta combinación de factores ambientales influye significativamente en la tasa de desarrollo de estos procesos, denominados colectivamente como “período crítico para la infección”. Los conidios germinan y los tubos germinativos pueden penetrar la cutícula después de formar apresorios, o entrar a través de los estomas (Fujita, 1990). El prolongado período de infección latente de, que incluye tanto la fase de incubación como la de latencia, resulta en la manifestación de síntomas foliares durante las etapas reproductivas avanzadas de los cultivos de soja (Zivanovic et al., 2021). La presencia del patógeno se ha detectado en hojas asintomáticas de soja mediante qPCR desde la etapa vegetativa V4, apenas 22 días después de la siembra (Chanda et al., 2014). Debido a esta característica de elevada latencia, los síntomas se manifiestan hacia el final del ciclo del cultivo, por lo que el TH/MPS se considera una enfermedad monocíclica (Carmona et al., 2017). Si bien es probable que se produzcan algunos ciclos de infecciones secundarias, su frecuencia tiende a aumentar hacia el final de la temporada de crecimiento dentro del mismo cultivo de soja, por lo que se la considera una enfermedad monocíclica (oligocíclica). Una vez que se cosecha el cultivo, el patógeno persiste en los rastros infestados, las semillas infectadas y los otros hospedantes, reiniciando el ciclo primario de la enfermedad (Figura 2).

MANEJO INTEGRADO DEL TIZÓN DE LA HOJA Y MANCHA PÚRPURA DE LA SEMILLA

Los productores agrícolas y asesores técnicos a menudo subestiman la importancia fundamental del control de los patógenos en las semillas. La introducción de patógenos causantes de EFC en nuevos países y campos donde antes no se había cultivado soja, es facilitada por semillas infectadas. Este mecanismo también es responsable de introducir nuevas razas del patógeno o cepas resistentes a fungicidas en países o regiones donde su existencia no estaba previamente documentada (Agarwal et al., 2006). El análisis sanitario de semillas es una herramienta crucial para determinar el destino del lote e identificar el

tratamiento fungicida adecuado, incluido el ingrediente activo específico y la dosis requerida. Por su parte, la rotación de cultivos facilita la descomposición de los residuos de cultivos infestados por patógenos necrotróficos, lo que lleva a la eliminación del inóculo restante en el rastrojo por inanición (Reis et al., 2011). Es importante resaltar que, bajo un contexto de monocultivo de soja, el tratamiento de semillas pierde relevancia. En tales casos, la fuente principal de inóculo es el rastrojo infestado, que tiene el potencial de anular o reducir la eficacia del tratamiento de semillas con fungicidas



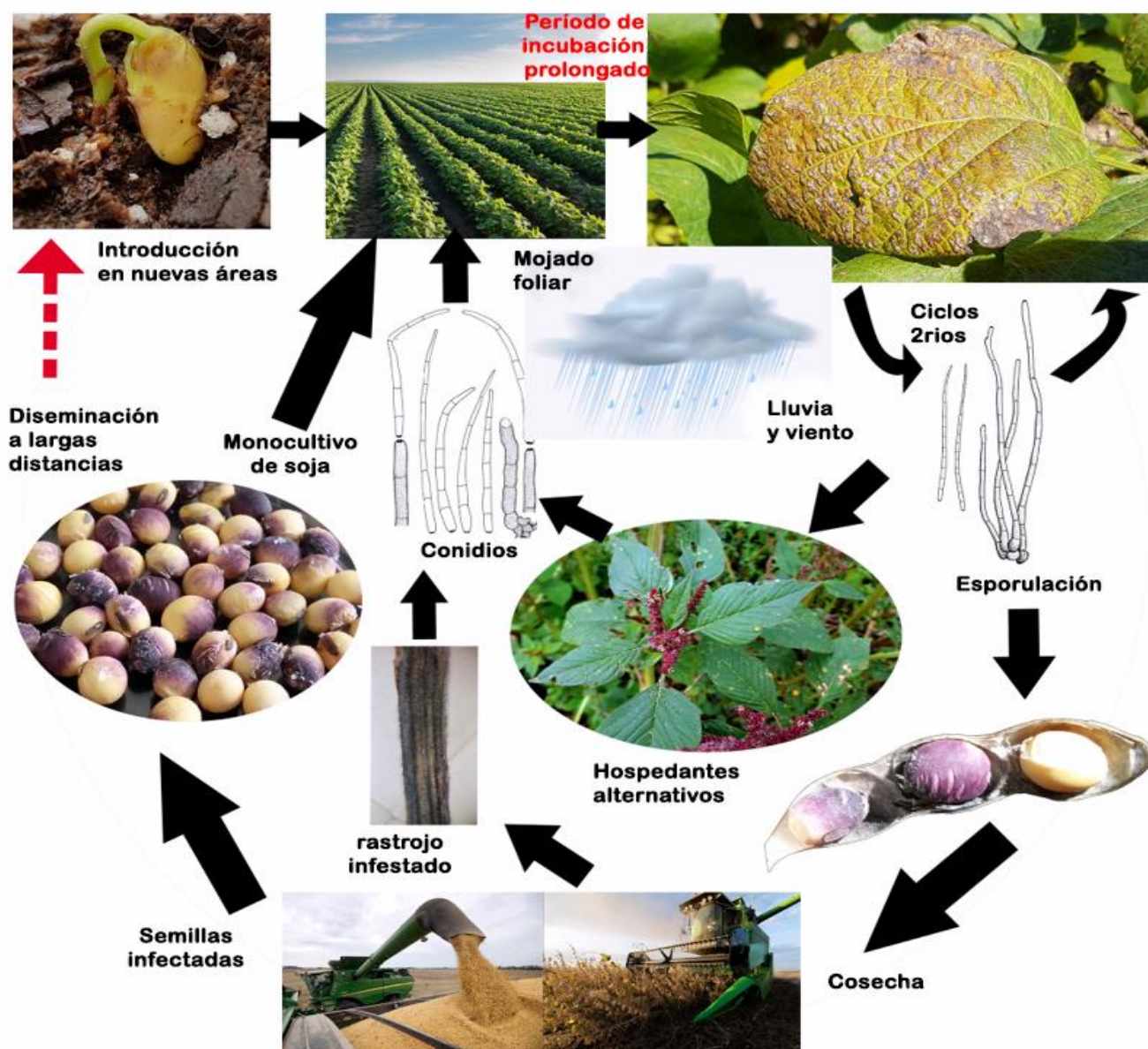


Figura 2. Ciclo biológico-agronómico del tizón foliar y mancha púrpura de la semilla de soja causados por *Cercospora* spp.

Por lo tanto, la rotación de cultivos surge como un complemento esencial al control sanitario de semillas, evitando el establecimiento de hongos necrotróficos en los campos. Estas dos medidas de manejo se consideran esenciales cuando se cultiva soja por primera vez o se emplean prácticas de siembra directa o labranza reducida. En los últimos años, en Argentina y Brasil, numerosos campos de soja han pasado a prácticas de siembra directa combinadas con monocultivo de soja. Esto ha resultado en una escalada en la intensidad de las EFC, incluido el TH/MPS. Además, en las últimas temporadas agrícolas, se ha observado un aumento en la prevalencia de cultivares de soja susceptibles a TH/MPS en campos de EE. UU. y América del Sur, incluidos Argentina, Brasil, Bolivia, Paraguay, Uruguay y otros (Li et al., 2019). Si bien ciertos

estudios han identificado fuentes potenciales de resistencia a TH/MPS que podrían integrarse en variedades de soja disponibles comercialmente (Alloatti et al., 2015a,b; Kashiwa et al., 2021b; Ward et al., 2021), aún no hay una disponibilidad inmediata de variedades resistentes a las *Cercospora* causantes de TH/MPS. En consecuencia, el control químico se ha convertido en el enfoque predominante para el manejo de hongos fitopatógenos en sistemas de cultivo extensivo en todo el mundo. A diferencia de otras enfermedades fúngicas que afectan el follaje de la soja, lograr un control químico eficaz de *Cercospora* plantea varios desafíos. En primer lugar, el TH/MPS se caracteriza por un período de incubación prolongado, lo que hace que los síntomas foliares se vuelvan notorios principalmente hacia el final del cultivo,



principalmente en R6-R7 (Carmona et al., 2015). En soja, el impacto de las aplicaciones foliares de fungicidas es significativo cuando se aplican entre las etapas de crecimiento R3 y R5.5 (Carmona et al., 2011, 2015), ya que en ese momento ocurre el período crítico para la definición del rendimiento del grano. Por lo tanto, las aplicaciones de fungicidas posteriores a este período no resultan en un aumento sustancial del rendimiento. En segundo lugar, el TH/MPS a menudo se manifiesta simultáneamente con otras enfermedades causantes de manchas foliares, como la mancha marrón por *Septoria glycines*. Estas enfermedades presentan síntomas iniciales muy similares, lo que plantea un desafío a la hora de cuantificarlos con precisión. En tercer lugar, la aparición de cepas resistentes a múltiples fungicidas complica significativamente la selección de principios activos eficaces. A la luz de los desafíos antes mencionados, Carmona et al., 2015, desarrollaron un sistema de puntuación eficaz para anticipar las epidemias de EFC en el campo y así ayudar a la toma de decisión de control químico.

Según investigaciones recientes, la resistencia a múltiples fungicidas no sólo aumentó, sino que también se generalizó entre varias poblaciones de *Cercospora* en diferentes regiones productoras de soja. De acuerdo con los hallazgos reportados por Sautua et al. (2019b) en Bolivia, Sautua et al. (2020a) y Sautua (2021) en Argentina, de Mello et al. (2021) en Brasil, Price et al.

(2015), Albu et al. (2016b) y Shrestha et al. (2024) en EE.UU., los aislados de poblaciones de *Cercospora* responsables de TH/MPS en Argentina, Brasil y América del Norte exhiben múltiples sustituciones de aminoácidos, que confieren resistencia a fungicidas con diversos modos o mecanismos de acción (es decir, resistencia múltiple a fungicidas). Los estudios indican que la resistencia a los fungicidas inhibidores de la quinona externa (QoI, estrobilurinas) está muy extendida en las poblaciones argentinas de *Cercospora*. La evidencia sugiere que todas las poblaciones analizadas parecen estar compuestas por individuos resistentes a QoI y que la mutación G143A está presente en la mayoría de los aislados recolectados de soja y de otros hospedantes como *A. hybridus* y *A. hortorum*. Asimismo, la mitad de los aislados argentinos evaluados fueron altamente resistentes a carbendazim. Estos aislados poseen la mutación E198A, lo que sugiere que la resistencia a este fungicida se está extendiendo en las poblaciones de *Cercospora*. Por otro lado, los fungicidas SDHI (carboxamidas) representan un caso especial, ya que las especies de *Cercospora* que causan TH/MPS parecen ser insensibles (naturalmente resistentes) según pruebas *in vitro* (Sautua et al., 2020a; Sautua, 2021). Se evaluó la sensibilidad de los aislados argentinos al SDHI, revelando insensibilidad a boscalid, fluxapyroxad y pydiflumetofen en términos de inhibición del crecimiento micelial (CE50 > 100 µg/mL).

NUEVAS HERRAMIENTAS DE MANEJO

Los avances recientes en el manejo de enfermedades de cultivos incluyen el uso de biofungicidas, bioestimulantes e inductores de defensa de las plantas como complemento al control químico. Estas herramientas están ganando popularidad por su enfoque sustentable con el medio ambiente, y han sido revisadas exhaustivamente por Pérez Pizá et al. (2023). Algunos ejemplos aplicados al patosistema del TH/MPS son prometedores para el futuro. Santos Rezende et al. (2020) lograron la interrupción o supresión de la expresión del efector AVR4 en *C. cf. flagellaris* mediante tratamiento con ARN bicatenario (ARNds) en el laboratorio. De manera similar, se logró transformar plantas de tabaco con la incorporación de genes de autorresistencia a cercosporina aislados de *C. nicotianae* y, por otro lado, se transformaron plantas para lograr el silenciamiento de la ruta biosintética de cercosporina. Ambas estrategias fueron efectivas para lograr resistencia a la enfermedad (Thomas et al., 2020). En un estudio de Sequín et al. (2020), se examinaron nueve extractos de *Prosopis nigra* (Fabaceae) mediante la prueba de difusión en disco contra *C. kikuchii*. El extracto metanólico derivado de las hojas

exhibió la mayor actividad, demostrando la dosis inhibidora más baja. La triptamina fue identificada como el principal componente antifúngico. Además, este tratamiento demostró sinergia con el difenoconazole. La triptamina no solo inhibió la producción de cercosporina entre un 36% y un 96% cuando se aplicó entre 25 y 100 µg, sino que también mostró una inhibición del 70% cuando se usó en combinación con el fungicida. Otro estudio reciente realizado por Kim et al. (2023) reveló que las semillas de soja tratadas con endófitos provenientes de semillas sanas brindan una protección notable contra diversos patógenos. Además, estos investigadores observaron que ciertos endófitos tienen el doble beneficio de suprimir enfermedades y promover el crecimiento de las plantas. En particular, las semillas inoculadas con *C. kikuchii* y tratadas con *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* no mostraron diferencias significativas en comparación con el control. Esta investigación destaca el importante potencial agrícola de los endófitos en la protección de cultivos. Sin embargo, vale la pena señalar que ninguno de los endófitos exhibió una actividad fitosanitaria de amplio espectro. Es por esta



razón que es fundamental profundizar en estas investigaciones y evaluar estrategias que involucren consorcios de microorganismos para mejorar su eficacia, incluso cuando se combinan con fungicidas de síntesis química. Otras de las herramientas complementarias y aditivas es la posibilidad de uso de mezclas de fungicidas con bioestimulantes a base de fosfitos. Al respecto, Carmona et al. (2019) reportaron que la adición de CuPhi (fosfito de cobre) a una mezcla de fungicidas estrobilurina + triazol tuvo un efecto sinérgico y/o aditivo en el control de la EFC de la soja y en la protección del rendimiento del grano. La eficacia mejorada de estos grupos de fungicidas con la adición de CuPhi podría reducir la cantidad de aplicaciones y, en consecuencia, ayudar a prolongar la vida útil de estos modos de acción fungicida.

Al considerar las barreras para adoptar nuevas herramientas de manejo, es esencial resaltar la necesidad

de realizar más investigaciones. Si bien estos enfoques muestran un potencial prometedor para el manejo de enfermedades, su aplicación generalizada presenta ciertas limitaciones y desafíos que requieren una consideración cuidadosa para garantizar su implementación efectiva en escenarios del mundo real (Pérez Pizá et al., 2023). Por ejemplo, como lo demuestran Santos Rezende et al. (2020), la reducción de la virulencia de *C. cf. flagellaris* en soja se puede lograr mediante tratamiento externo con ARN bicatenario (dsRNA) o mediante la producción de mutantes Δ avr4 mediante edición genética en el laboratorio. La fase siguiente debe implicar la evaluación de esta metodología mediante pruebas de invernadero y de campo. Explorar este escenario es muy prometedor para lograr un manejo sostenible del patosistema en los cultivos de soja. Este enfoque de manejo integrado implica un desafío a corto plazo para mejorar el manejo de TH/MPS en el campo.

Este trabajo forma parte de los resultados de la tesis doctoral denominada “Sensibilidad y resistencia a fungicidas de *Cercospora kikuchii*, agente causal del tizón de la hoja y mancha púrpura de la semilla de la soja”, realizada en la Universidad Nacional de La Plata por Francisco Sautua y dirigida por los doctores Marcelo Carmona y Mercedes Scandiani.

Este trabajo fue subvencionado por la Universidad de Buenos Aires (UBACYT 20020220100114BA) y Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT 01-PICT 2022-2022-09-00434).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agarwal PC, Dev U, Singh B, Indra R, Khetarpal RK (2006) Seed-borne fungi detected in consignments of soybean seeds (*Glycine max*) imported into India. OEPP/EPPO, Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 36: 53–58.
- Albu S, Schneider RW, Price PP, Doyle VP (2016a) *Cercospora* cf. *flagellaris* and *Cercospora* cf. *sigesbeckiae* Are Associated with *Cercospora* Leaf Blight and Purple Seed Stain on Soybean in North America. Phytopathology 106: 1376-1385. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-15-0332-R>
- Albu A, Price T, Doyle V, Padgett B, Schneider R (2016b) The G143A mutation is responsible for strobilurin fungicide resistance in *Cercospora* cf. *flagellaris*, a leaf blight and purple seed stain pathogen of Louisiana soybean. Plant Health Progress 17:197-197. <https://doi.org/10.1094/PHP-BR-16-0043>
- Alloatti J, Li S, Chen P, Jauregui L, Smith SF, Florez-Palacios L, Orazaly M, Rupe J (2015a) Screening a diverse soybean germplasm collection for reaction to purple seed stain caused by *Cercospora kikuchii*. Plant Disease 99: 1140-1146. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-14-0878-RE>
- Alloatti J, Chen P, Zeng A, Li S, Rupe J, Florez-Palacios L, Orazaly M (2015b) Inheritance of and molecular markers for purple seed stain resistance in soybean. Euphytica 206: 701–709. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1492-2>
- Bakhshi M, Arzanlou M, Babai-Ahari A, Groenewald JZ, Braun U, Crous PW (2015b) Application of the consolidated species concept to *Cercospora* spp. from Iran. Persoonia. 34: 65-86. <https://doi.org/10.3767/003158515X685698>
- Bakhshi M, Zare R, Kermanian M, Ebrahimi L (2021) Cryptic diversity, multi-locus phylogeny and pathogenicity of cercosporoid fungi associated with common bean and cowpea. Plant Pathol. 70: 1665-1676. <https://doi.org/10.1111/ppa.13403>
- Borges LL, Ferreira TF, Lana MG, Caliman ID, Bluhm BH, Oliveira LO (2018) Multi-host species of *Cercospora* are associated with *Cercospora* leaf blight and purple seed stain of soybean. Trop. plant pathol. 43: 170. <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0205-x>
- Carmona M, Sautua F, Perelman S, Reis EM, Gally M (2011) Relationship between Late Soybean Diseases Complex and rain in determining grain yield responses to fungicide applications. Journal of Phytopathology 159: 687–693. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2011.01828.x>
- Carmona MA, Sautua FJ, Perelman S, Gally M, Reis EM (2015) Development and validation of a fungicide scoring system for management of late season soybean diseases in Argentina. Crop Protection 70: 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.01.019>
- Carmona M, Reis E, Sautua F (2017) Sustainable Chemical Control of Main Soybean Diseases in South America. pp. 203-245. In: Fletcher B (Ed.), Soybeans: Cultivation, Nutritional Properties and Effects on Health. 1st Edition. Nova Science Publishers Inc. ISBN: 978-1-63485-842-7



- Carmona M, Sautua F, Pérez-Hernández O (2019) Copper phosphite enhances efficacy of a strobilurin-triazole fungicide in controlling late season foliar diseases of soybean. *Crop Protection* 115: 130-134. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.09.019>
- Chai A, Zhao Q, Shi Y, Xie X, Li L, Li B (2021) First Report of *Cercospora* Leaf Spot Caused by *Cercospora* cf. *flagellaris* on Okra in China. *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-20-2155-PDN>
- Chanda AK, Ward NA, Robertson CL, Chen Z-Y, Schneider RW (2014) Development of a quantitative polymerase chain reaction detection protocol for *Cercospora kikuchii* in soybean leaves and its use for documenting latent infection as affected by fungicide applications. *Phytopathology* 104: 1118-1124. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-13-0200-R>
- Chen H, Lee M-H, Daub ME, Chung K-R (2007) Molecular analysis of the cercosporin biosynthetic gene cluster in *Cercospora nicotianae*. *Molecular Microbiology* 64(3): 755–770. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05689.x>
- Daub ME, Ehrenshaft M (2000) The photoactivated *Cercospora* toxin cercosporin: Contributions to plant disease and fundamental biology. *Annual Review of Phytopathology* 38: 461-490. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.38.1.461>
- Daub ME, Chung K-R (2007) Cercosporin: A photoactivated toxin in plant disease. Online. APSnet Features. [doi: 10.1094/APSnetFeature/2007-0207](https://doi.org/10.1094/APSnetFeature/2007-0207)
- de Jonge R, Ebert MK, Huitt-Roehl CR, Pal P, Suttle JC, Spanner RE, Neubauer JD, Jurick WM 2nd, Stott KA, Secor GA, Thomma BPHJ, Van de Peer Y, Townsend CA, Bolton MD (2018) Gene cluster conservation provides insight into cercosporin biosynthesis and extends production to the genus *Colletotrichum*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 115(24): E5459-E5466. <https://doi.org/10.1073/pnas.1712798115>
- de Mello, F.E., Lopes-Caitar, V.S., Prudente, H. et al. (2021) Sensitivity of *Cercospora* spp. from soybean to quinone outside inhibitors and methyl benzimidazole carbamate fungicides in Brazil. *Tropical plant pathology* 46: 69–80. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00410-4>
- Doyle VP, Tonry HT, Amsden B, Beale J, Dixon E, Li H, Szarka D, Ward Gauthier N (2019) First Report of *Cercospora* cf. *flagellaris* on Industrial Hemp (*Cannabis sativa*) in Kentucky. *Plant Disease* 103: 1784-1784. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-19-0135-PDN>
- Fujita Y (1990) Ecology and control of purple seed stain of soybean caused by *Cercospora kikuchii*. *Bull. Tohoku Natl. Agric. Exp. Stn.* 81:99-109.
- Galagedara NN, Doyle V, Price P, Robertson CL, Thomas-Sharma S (2020) Importance of air-borne conidia in the epidemiology of *Cercospora* Leaf Blight on soybean. APS Annual Meeting, August 10-14, Virtual Meeting.
- Groenewald JZ, Nakashima C, Nishikawa J, Shin H-D, Park J-H, Jama AN, Groenewald M, Braun U, Crous PW (2013) Species concepts in *Cercospora*: spotting the weeds among the roses. *Studies in Mycology* 75: 115–170. <https://doi.org/10.3114/sim0012>
- Guillin EA, de Oliveira LO, Grijalba PE, et al. (2017) Genetic entanglement between *Cercospora* species associating soybean purple seed stain. *Mycol Progress* 16, 593–603. <https://doi.org/10.1007/s11557-017-1289-x>
- Hsieh CW, Chuang YY, Lee MZ, Kirschner R (2020) First Inventory of Fungi in Symptomless and Symptomatic Chinese Mesona Indicates Phytopathological Threat. *Plant Dis.* 104(9): 2391-2397. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-20-0475-RE>
- Imazaki I, Sasahara M, Koizumi S (2007) Spatial distribution of purple seed stain of soybean caused by *Cercospora kikuchii* in fields. *Journal of General Plant Pathology* 73: 41-45. <https://doi.org/10.1007/s10327-006-0323-7>
- Kashiwa T, Suzuki T (2021a) High-quality genome assembly of the soybean fungal pathogen *Cercospora kikuchii*. *G3 (Bethesda)*. 11(10): jkab277. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkab277>
- Kashiwa T, Lavilla MA, Diaz Paleo A, Ivancovich AJG, Yamanaka N (2021b) The use of detached leaf inoculation for selecting *Cercospora kikuchii* resistance in soybean genotypes. *PhytoFrontiers™*. <https://doi.org/10.1094/PHYTOFR-01-21-0002-TA>
- Kim J, Ahn SH, Yang JS, Choi S, Jung HW, Jeon J (2023) Plant Protective and Growth Promoting Effects of Seed Endophytes in Soybean Plants. *Plant Pathol J.* 39(5): 513-521. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.06.2023.0091>
- Lee JH, Hwang S-R, Lee Y-H, Kim K, Cho KM, Lee YB (2015) Changes occurring in compositions and antioxidant properties of healthy soybean seeds [*Glycine max* (L.) Merr.] and soybean seeds diseased by *Phomopsis longicolla* and *Cercospora kikuchii* fungal pathogens. *Food Chemistry* 185: 205–211. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.139>
- Li S, Sciumbato G, Boykin D, Shannon G, Chen P (2019) Evaluation of soybean genotypes for reaction to natural field infection by *Cercospora* species causing purple seed stain. *PLoS ONE* 14(10): e0222673. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222673>
- Luo X, Cao J, Huang J, Wang Z, Guo Z, Chen Y, Ma S, Liu J. (2018) Genome sequencing and comparative genomics reveal the potential pathogenic mechanism of *Cercospora sojae* Hara on soybean. *DNA Research* 25(1): 25-37. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsx035>
- McLean KS, Roy KW (1988) Purple seed stain of soybean caused by isolates of *Cercospora kikuchii* from weeds. *Canadian Journal of Plant Pathology* 10: 166-171. <https://doi.org/10.1080/07060668809501749>
- Park MJ, Back CG, Park JH (2020) Occurrence of *Cercospora* Leaf Spot caused by *Cercospora* cf. *flagellaris* on melon in Korea. *Mycobiology* 48(5): 418-422. <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1792133>
- Pérez-Pizá MC, Sautua FJ, Szparaga A, Bohata A, Kocira S, Carmona MA (2023) New Tools for the Management of Fungal Pathogens in Extensive Cropping Systems for Friendly Environments. *Critical Reviews in Plant Sciences*. <https://doi.org/10.1080/07352689.2023.2268921>
- Price P, Purvis MA, Cai G, Padgett GB, Robertson CL, Schneider RW, Albu S (2015) Fungicide resistance in *Cercospora kikuchii*, a soybean pathogen. *Plant Disease* 99: 1596-1603. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-14-0782-RE>
- Rangel LI, Spanner RE, Ebert MK, et al. (2020) *Cercospora beticola*: The intoxicating lifestyle of the leaf spot pathogen of sugar beet. *Molecular Plant Pathology* 21: 1020–1041.



- <https://doi.org/10.1111/mpp.12962>
- Reis EM, Baruffi D, Remor L, Zanatta M (2011) Decomposition of corn and soybean residues under field conditions and their role as inoculum source. *Summa Phytopathologica* 37(1): 65-67. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052011000100011>
- Santos Rezende J, Zivanovic M, Costa de Novaes MI, Chen Z-Y (2020) The AVR4 effector is involved in cercosporin biosynthesis and likely affects the virulence of *Cercospora cf. flagellaris* on soybean. *Molecular Plant Pathology* 21: 53-65. <https://doi.org/10.1111/mpp.12879>
- Sautua S, Gonzalez S, Doyle V, Berretta M, Gordó M, Scandiani M, Rivarola M, Fernandez P, Carmona M (2019a) Draft genome sequence data of *Cercospora kikuchii*, a causal agent of *Cercospora* leaf blight and purple seed stain of soybeans. *Data in Brief* 27: 104693. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.104693>
- Sautua FJ, Searight J, Doyle VP, Price PP III, Scandiani MM and Carmona MA (2019b) The G143A mutation confers azoxystrobin resistance to soybean *Cercospora* leaf blight in Bolivia. *Plant Health Progress* 20: 2-3. <https://doi.org/10.1094/PHP-10-18-0060-BR>
- Sautua FS, Doyle VP, Price PP III, Porfiri A, Fernandez P, Scandiani MM, Carmona MA (2020a) Fungicide resistance in *Cercospora* species causing *Cercospora* leaf blight and purple seed stain of soybean in Argentina. *Plant Pathology* 69: 1678–1694. <https://doi.org/10.1111/ppa.13261>
- Sautua FJ, Searight J, Doyle VP, Scandiani MM, Carmona MA (2020b) *Cercospora cf. nicotianae* is a causal agent of *Cercospora* Leaf Blight of soybean. *European Journal of Plant Pathology* 156: 1227–1231. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-01969-z>
- Sautua F (2021) Sensibilidad y resistencia a fungicidas de *Cercospora kikuchii*, agente causal del tizón de la hoja y mancha púrpura de la semilla de la soja. Tesis doctoral, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina. Available at: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/127606>
- Schuh W (1991) Influence of temperature and leaf wetness period on conidial germination in vitro and infection of *Cercospora kikuchii* on soybean. *Phytopathology* 81:1315-1318. [doi: 10.1094/Phyto-81-1315](https://doi.org/10.1094/Phyto-81-1315)
- Sequín CJ, Sampietro DA, Sgariglia MA, Soberón JR, Catalán CAN, Aceñolaza PG (2020) Use of extracts from *Prosopis nigra* in the control of *Cercospora kikuchii* and *Septoria glycines*. *Industrial Crops and Products* 158: 112979. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112979>
- Shrestha B, Ward B, Allen T, Da Silva E, Zulli H, Dunford W, Doyle VP, Bradley C, Buckley B, Chen P, Clubb M, Kelly HM, Koebernick J, Padgett GB, Rupe JC, Sikora E, Spurlock T, Thomas-Sharma S, Tolbert AC, Zhou XG, Price P (2024) Characterization of QoI-fungicide resistance in *Cercospora* isolates associated with *Cercospora* leaf blight of soybean from the southern United States. *Plant Dis.* <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-23-0588-RE>
- Silva EC, Abhayawardhana PL, Lygin AV, Robertson CL, Liu M, Liu Z, Schneider RW (2018) Coumestrol Confers Partial Resistance in Soybean Plants Against *Cercospora* Leaf Blight. *Phytopathology* 108: 935-947. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-17-0189-R>
- Soares APG, Guillen EA, Borges LL, Silva ACTd, Almeida ÁMRd, Grijalba PE, et al. (2015) More *Cercospora* Species Infect Soybeans across the Americas than Meets the Eye. *PLoS ONE* 10(8): e0133495. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133495>
- Thomas E, Herrero S, Eng H, Goma N, Gillikin J, Noar R, et al. (2020) Engineering *Cercospora* disease resistance via expression of *Cercospora nicotianae* cercosporin-resistance genes and silencing of cercosporin production in tobacco. *PLoS ONE* 15(3): e0230362. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230362>
- Upchurch RG, Walker DC, Rollins JA, Ehrenschaft M, Daub ME (1991) Mutants of *Cercospora kikuchii* altered in cercosporin synthesis and pathogenicity. *Applied and Environmental Microbiology* 57(10): 2940-2945. <https://doi.org/10.1128/aem.57.10.2940-2945.1991>
- Ward NA, Schneider RW, Chanda A, Silva EC, Price PP, Cai G (2015) *Cercospora* leaf blight and purple seed stain. In *Compendium of Soybean Diseases and Pests*. 5th Edition. Eds. Hartman GL, Rupe JC, Sikora EJ, Domier LL, Davis JA and Steffey KL. pp 37-41.
- Ward BM, Shrestha BK, Allen TW, Buckley B, Chen P, Clubb M, Mozzoni LA, Orazaly M, Florez L, Moseley D, Rupe JC, Gentimis T, Price III PP (2021) Evaluating *Cercospora* leaf blight resistance in soybean accessions using an improved categorical disease-evaluation scale. *Journal of Crop Improvement* 35: 679-699. <https://doi.org/10.1080/15427528.2020.1865226>
- Zivanovic M, Ward B, Price PP, Chen Z-Y (2021) Elucidation of factors contributing to onset of *Cercospora* leaf blight during later reproductive development of soybean. *Plant Pathology* 70: 2074–2085. <https://doi.org/10.1111/ppa.13456>

