

MANCHA OJO DE RANA (*CERCOSPORA SOJINA* K. HARA) Y SU EFECTO SOBRE RENDIMIENTO Y COMPONENTES INDUSTRIALES DEL GRANO DE SOJA: PROTEINA Y ACEITE

Trabajo final para optar al título de Especialista en Cultivos de Granos de la Universidad de Buenos Aires, Área Ciencias Agropecuarias

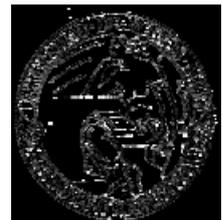
Nicolás Esteban Gaido

Ingeniero Agrónomo - Facultad de Ciencias Agropecuarias - Universidad Nacional de Córdoba. Año de egreso: 2006

Lugar de trabajo: Acopio Oncativo
Aceitera General Deheza – Córdoba, Argentina



Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



AUTOR

Nicolás Esteban Gaido

Ingeniero Agrónomo - Facultad de Ciencias Agropecuarias - Universidad Nacional de Córdoba. Año de egreso: 2006

TUTOR DE TRABAJO FINAL

Constanza Soledad Carrera

Ingeniera Agrónoma (Universidad Nacional de Córdoba) Año de egreso: 2006
Doctora en Ciencias Agropecuarias (Universidad Nacional de Córdoba) Año de egreso: 2011

JURADO

Tutor de trabajo final

Constanza Soledad Carrera

Ingeniera Agrónoma (Universidad Nacional de Córdoba) Año de egreso: 2006
Doctora en Ciencias Agropecuarias (Universidad Nacional de Córdoba) Año de egreso: 2011

JURADO

Angela Norma Formento

Ingeniera Agrónoma (Universidad Nacional de Entre Ríos) Año de egreso: 1979
Doctorando de Facultad de Ciencias Agrarias (Universidad Nacional de Rosario) Año de ingreso: 2010

JURADO

Ramiro Carretero

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires) Año de egreso: 2004
Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Buenos Aires) Año de egreso: 2011

Fecha de defensa del trabajo: 29 de Octubre de 2013

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mi esposa Constanza, que estuvo siempre a mi lado, dándome su apoyo incondicional.

A mi hijo Agustín que es motivo de inspiración en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

- *Agradezco a mi tutora Dra. Constanza Carrera, por sus invaluable aportes durante la realización de la tesis, infinita paciencia, consejos y constante aliento.*
- *Gracias Jorge Gieco por tu aporte en el diseño experimental del ensayo y transmitirme tus conocimientos en el área de fitopatología del trabajo.*
- *A la empresa Aceitera General Deheza S.A (AGD), por brindarme los recursos y apoyo en mi formación profesional.*
- *A mi esposa y mi hijo por haberme acompañado en este camino, por su constante aliento y su apoyo incondicional.*
- *Gracias Daniel Miralles por tu ayuda para gestar la idea del trabajo, tus aportes fueron claves durante todo el cursado de la especialización.*
- *Gracias Debora Rondanini y Julio Dardanelli por el aporte de sus conocimientos en la realización del ensayo, en la interpretación de los resultados y en la lectura crítica del manuscrito.*
- *Gracias Julio Di Rienzo, por contribuir en el análisis estadístico, tu colaboración fue fundamental.*
- *Gracias Ricardo Monterisi y al laboratorio de calidad de AGD, por hacer las determinaciones químicas, en tiempo y forma.*
- *Gracias Laura Carrizo y al Semillero de AGD Chazon por facilitarme el lugar y la maquinaria para procesar las muestras.*
- *Gracias Cristiano Cassini y al laboratorio de semillas del INTA Manfredi por brindar el lugar y los instrumentos para realizar las determinaciones.*
- *Gracias a los jurados de esta tesis por aceptar la revisión, por el tiempo dedicado y las valiosas observaciones realizadas, dado que estas transmitieron un espíritu de mejora sobre la calidad de este trabajo.*

INDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. La Soja: Un Recurso Agroindustrial	1
1.2. Mancha Ojo de Rana (<i>Cercospora sojina</i> K. Hara): Patógeno, Síntomas, Ciclo de la Enfermedad y Daños	3
1.3. Mancha Ojo de Rana (<i>Cercospora sojina</i> K. Hara): Manejo y Control de la Enfermedad	7
1.4. Mancha Ojo de Rana (<i>Cercospora sojina</i> K. Hara): Efectos Sobre la Calidad del Grano.....	10
2. HIPÓTESIS	12
3. OBJETIVOS	12
3.1. Objetivo general.....	12
3.2. Objetivos específicos	13
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
4.1. Diseño Experimental y Tratamientos.....	14
4.2. Variables Medidas.....	17
4.3. Análisis de los datos	20
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
5.1. Condiciones Ambientales Durante el Ensayo.....	22
5.2. Presencia de MOR en Ambos Genotipos y Efectividad del Control Químico.....	23
5.3. Efectos de MOR Sobre el Rendimiento de Soja.....	25
5.4. Efectos de Cultivar, Tratamiento y de la Interacción entre Cultivar y Tratamiento sobre el Rendimiento y sus componentes.....	27
5.5. Efectos de Cultivar, Tratamiento y de la Interacción entre Cultivar y Tratamiento sobre la Calidad del Grano	34
6. CONCLUSIONES	39
7. ANEXOS.....	42
7.1. ANEXO 1	43
CARACTERIZACIÓN TÉRMICA Y PLUVIOMÉTRICA DURANTE EL CICLO DEL CULTIVO	43
8. BIBLIOGRAFÍA.....	45

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Caracterización agronómica y grado de susceptibilidad a MOR según escala propuesta por Distéfano <i>et al.</i> (2010) de los dos cultivares comerciales transgénicos evaluados a campo.....	14
Tabla 2. Precipitación (Pp) y promedio de la temperatura media diaria del aire mensual (Tm) para la campaña 2010-2011 del ensayo realizado en la localidad de Oncativo (Córdoba) y la media de 35 años para los mismos meses.	22

INDICE DE FIGURAS

- Fig. 1. Evolución del área sembrada (a) y de la producción física de granos (b) de Buenos Aires (línea continua roja), Santa Fe (línea continua verde), Córdoba (línea continua violeta) y Argentina (línea punteada azul). Fuente: SAGPyA (2011). 2
- Fig. 2. Principales empresas exportadoras del complejo soja en Argentina. Grano= barras amarillas; harina= barras verdes y aceite= barras rojas. Fuente: SAGPyA (2011). 3
- Fig. 3. Lesiones características de mancha ojo de rana resultantes de la infección de *Cercospora sojina* (a) lesiones en un folíolo de soja (b) lesiones en una vaina de soja. 6
- Fig. 4. a y b. Ensayo realizado a campo en condiciones productivas del centro de la provincia de Córdoba (Oncativo), utilizando un diseño estadístico de bloques en parcelas divididas con arreglo en franjas, con tres repeticiones. Campaña agrícola 2010-2011. 15
- Fig. 5. Plano del ensayo realizado a campo durante la campaña agrícola 2010/11. 17
- Fig. 6. Esquema del ciclo ontogénico del cultivo de soja. Se representa la morfología de las plantas y el estado de los órganos reproductivos más avanzados de los nudos superiores del tallo principal. Se señalan algunos estadios de desarrollo según la escala de Fehr y Caviness (1997). VE: emergencia; VC: estado cotiledonar; V1: 1er nudo; V2: 2do nudo; V3: 3er nudo; R1: inicio de floración; R3: inicio de formación de vainas; R5: inicio del llenado de granos; R7: madurez fisiológica. 18
- Fig. 7. Escala de severidad para mancha ojo de rana propuesta por Distéfano *et al.* (2010). 19
- Fig. 8. Porcentaje de severidad de mancha ojo de rana (MOR) exhibido por DM3700 (cultivar susceptible) en tres tratamientos diferentes (testigo enfermo= triángulo y línea guión punto; aplicación en R3= cuadrado y línea llena; aplicaciones en R3 + R5= círculo y línea punteada), medidos en los estadios fenológicos de R3 (flecha negra), R5 (flecha gris) y R7 (flecha blanca). Las barras verticales en cada set de datos indican el error estándar de la media. 23
- Fig. 9. Relación entre la severidad de MOR (porcentaje del área foliar con manchas) medido en el estadio fenológico de R7 y el rendimiento ajustado a la humedad base del cultivo (13,5%) (kg ha^{-1}) del cultivar DM3700, incluyendo los 4 tratamientos realizados (testigo sano= rombo, aplicación en R3= cuadrado, aplicaciones en R3 y R5= triángulo, testigo enfermo= círculo). 26
- Fig. 10. Rendimiento ajustado (kg ha^{-1}) de la interacción cultivar (DM3700 y DM3810) x tratamiento (testigo sano, aplicación en R3, aplicaciones en R3 y R5, testigo enfermo). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Las barras verticales indican el desvío estándar del conjunto total de datos. 28
- Fig. 11. Número de granos (m^2) de la interacción cultivar (DM3700 y DM3810) x tratamiento (testigo sano, aplicación en R3, aplicaciones en R3 y R5, testigo enfermo). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Las barras verticales indican el desvío estándar del conjunto total de datos. 31

- Fig. 12. Peso de mil granos ajustado (g) de la interacción cultivar (DM3700 y DM3810) × tratamiento (testigo sano, aplicación en R3, aplicaciones en R3 y R5, testigo enfermo). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Las barras verticales indican el desvío estándar del conjunto total de datos. 31
- Fig. 13. Relaciones entre (a) el rendimiento y el número de granos y (b) el rendimiento y el peso de mil granos ajustado de 2 cultivares comerciales (DM3810= negro y DM3700= blanco) considerando los 4 tratamientos realizados (testigo sano= rombo, aplicación en R3= cuadrado, aplicaciones en R3 y R5= triángulo, testigo enfermo= círculo). 33
- Fig. 14. Concentración de proteína (porcentaje de materia seca) de la interacción cultivar (DM3700 y DM3810) × tratamiento (testigo sano, aplicación en R3, aplicaciones en R3 y R5, testigo enfermo). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Las barras verticales indican el desvío estándar del conjunto total de datos. 34
- Fig. 15. Concentración de aceite (porcentaje de materia seca) de la interacción cultivar (DM3700 y DM3810) × tratamiento (testigo sano, aplicación en R3, aplicaciones en R3 y R5, testigo enfermo). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Las barras verticales indican el desvío estándar del conjunto total de datos. 35
- Fig. 16. Regresión entre la concentración de aceite (porcentaje de materia seca) y la concentración de proteína (porcentaje de materia seca) ($p < 0,0001$). El color blanco en la figura representa a DM3700 y el negro a DM3810. Las formas rombo, cuadrado, triángulo y círculo representan los tratamientos testigo sano, aplicación en R3, aplicaciones en R3 + R5 y testigo enfermo, respectivamente. 36
- Fig. 17. Regresión entre el rendimiento ajustado (kg ha^{-1}) y la concentración de proteína (porcentaje de materia seca) ($p = 0,0063$). El color blanco en la figura representa a DM3700 y el negro a DM3810. Las formas rombo, cuadrado, triángulo y círculo representan los tratamientos testigo sano, aplicación en R3, aplicaciones en R3 + R5 y testigo enfermo, respectivamente. 37

“Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución”.

LISTA DE ABREVIATURAS

Ac: Aceite
AACC: American Association of Cereal Chemists
AGD: Aceitera General Deheza S.A.
ANAVA: Análisis de la varianza
CO²: Dióxido de carbono
EFC: Enfermedades de fin de ciclo
°C: Grados centígrados
g: Gramos
GM: Grupo de madurez
h: Horas
IAF: Índice de área foliar
INTA: Instituto nacional de tecnología agropecuaria
kg/ha: Kilogramos por hectárea
LSD: least significant difference ó mínima diferencia significativa
lts: Litros
m²: Metros cuadrados
mg: Miligramos
mm: Milímetros
MOR: Mancha ojo de rana
NGm²: Número de granos por metro cuadrado
P: Valor de significancia
PMAj: Peso de mil semillas ajustado
%: Porcentaje
Pp: Precipitación
Pr: Proteína
R1: Inicio de floración
R3: Inicio de formación de vainas
R5: Comienzo del llenado de granos
R7: Madurez fisiológica
RECSO: Red de evaluación de cultivares de soja
SAGPyA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la República Argentina
Tm: Promedio de la temperatura media diaria del aire
USA: United States of America
USDA: United States Department of Agriculture

RESUMEN

La mancha ojo de rana (MOR), causada por *Cercospora sojina* K. Hara, se encuentra dentro del complejo de enfermedades fúngicas de fin de ciclo (EFC), que afectan al cultivo de soja [*Glycine max* (L.) Merr.] preferentemente en los estadios reproductivos. Es una enfermedad común en la soja en la mayor parte de las regiones sojeras del mundo, incluyendo Argentina. Con los objetivos de (i) estudiar el efecto de MOR sobre rendimiento y calidad industrial del grano de soja y (ii) analizar la respuesta a distintos momentos de aplicación de estrobilurina+triazol durante el ciclo reproductivo del cultivo para disminuir el daño de esta enfermedad evitando pérdidas del rendimiento y de calidad del grano, se realizó un ensayo durante la campaña agrícola 2010-2011, en la localidad de Oncativo (Córdoba), que involucró 2 genotipos contrastantes en susceptibilidad a MOR. Se realizaron para cada cultivar cuatro tratamientos con una mezcla de triazol y estrobilurina: T1= aplicación en R3; T2= aplicación en R3+R5; T3= testigo enfermo (sin aplicación de fungicida) y T4= testigo sano (aplicación cada 20 días a partir de R1). Se determinó el nivel de incidencia y severidad de la enfermedad, rendimiento, número de grano por m² (NGm²), peso de mil semillas (PMA), concentración de proteína (Pr) y aceite (Ac) del grano. Se observaron distintos niveles de severidad de MOR entre los tratamientos del cultivar DM3700. Todos los tratamientos que involucraron a DM3810 mostraron hojas sin manchas de MOR. Se encontró una correlación negativa entre la severidad de MOR y el rendimiento alcanzado por el cultivo. Los valores más elevados de severidad (37,3% de manchas foliares) se correspondieron con los rendimientos más bajos (2117 kg ha⁻¹) en el cultivar DM3700. Todos los tratamientos aplicados a DM3810 exhibieron los rendimientos más elevados y no se diferenciaron estadísticamente entre sí (3478 kg ha⁻¹). DM3700 alcanzó rendimientos similares a DM3810 sólo cuando se aplicó la mezcla de fungicidas en T1 y T4, no diferenciándose entre sí ambos tratamientos y mostrando un incremento en el rendimiento de aproximadamente 35,5% comparado con su testigo enfermo. Ambos componentes del

rendimiento disminuyeron en el testigo enfermo DM3700; sin embargo, las reducciones en el NGm² fueron más pronunciadas que las del PMAj y; por lo tanto, disminuciones en el NGm² parecían ser el principal componente de la pérdida de rendimiento. No se observaron incrementos de rendimiento, NGm² y/o PMAj atribuidos a la mezcla estrobilurinas + triazoles en los tratamientos que involucraron a DM3810 ante ausencia de MOR. La severidad máxima alcanzada por MOR en el genotipo más susceptible (37,3% de área foliar dañada en el tratamiento enfermo de DM3700) no fue suficiente como para causar disminución significativa en la acumulación del aceite. Según nuestro conocimiento este trabajo es el primero en demostrar que genotipos susceptibles a MOR disminuyen su rendimiento, pero no la calidad química del grano, si la severidad es $\leq 37,3\%$ y pueden ser controlados con una única aplicación de estrobilurina+triazol en R3. Concluyéndose que la elección de genotipos poco susceptibles a MOR (como DM3810) es efectiva para controlar *C. sojina*, sin beneficios adicionales en el rendimiento debidos a la aplicación de fungicidas.

Palabras Claves: enfermedades foliares, estadíos reproductivos de la soja, calidad del grano, triazol y estrobilurina, control genético y químico.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. La Soja: Un Recurso Agroindustrial

El complejo sojero argentino es uno de los sectores más dinámicos de la economía del país, generando cerca del 30% de divisas que ingresa de las exportaciones el cual representa el 30% del PBI del sector agroindustrial (Hilbert *et al.*, 2012). La soja es tradicionalmente clasificada como un cultivo oleaginoso; sin embargo, su gran importancia (y valor) se encuentra en su alto contenido de proteína de alta calidad biológica de bajo costo relativo (siendo el principal componente de la harina de soja) y en su alto contenido de aceite rico en ácidos grasos poliinsaturados esenciales, vitaminas y minerales (Carrera *et al.*, 2011). En Argentina, la calidad química del grano adquiere gran interés dado que el 73% de la producción de soja se exporta procesada como harina o aceite (CIARA-CEC, 2011), convirtiendo al país en líder mundial exportador de estos subproductos derivados de soja (USDA, 2011).

La soja es cultivada extensivamente en Argentina desde hace aproximadamente veinticinco años. La superficie sembrada en el país se incrementó vertiginosamente desde entonces y en la campaña 2010/11 llegó a los 18,9 millones de hectáreas, con una producción estimada en 48,9 millones de toneladas, ubicando al país como tercer productor mundial de soja, luego de Estados Unidos y Brasil (SAGPyA, 2011). En los últimos 10 años el área sembrada aumentó un 75% y la producción un 85% (Fig. 1). El complejo de soja argentino exportó en la campaña 2010/11 aproximadamente 9,2; 27,5 y 4,5 millones de toneladas como grano, harina y aceite respectivamente, con lo cual se posicionó a nivel mundial como tercer exportador de grano de soja, luego de USA y Brasil. También es el principal exportador de productos derivados como la harina proteica y el aceite, como se mencionó anteriormente. La principal provincia productora, tanto en superficie sembrada

como en producción física de granos, es Buenos Aires, seguida por Córdoba y Santa Fe (Fig. 1). Córdoba en la campaña 2010/2011 alcanzó valores de 5,1 millones de hectáreas sembradas y 12,3 millones de toneladas de granos (SAGPyA, 2011), lo que representa un incremento en la última década de aproximadamente 46% en el área destinada al cultivo y un crecimiento de 27% en la producción (SAGPyA 2011).

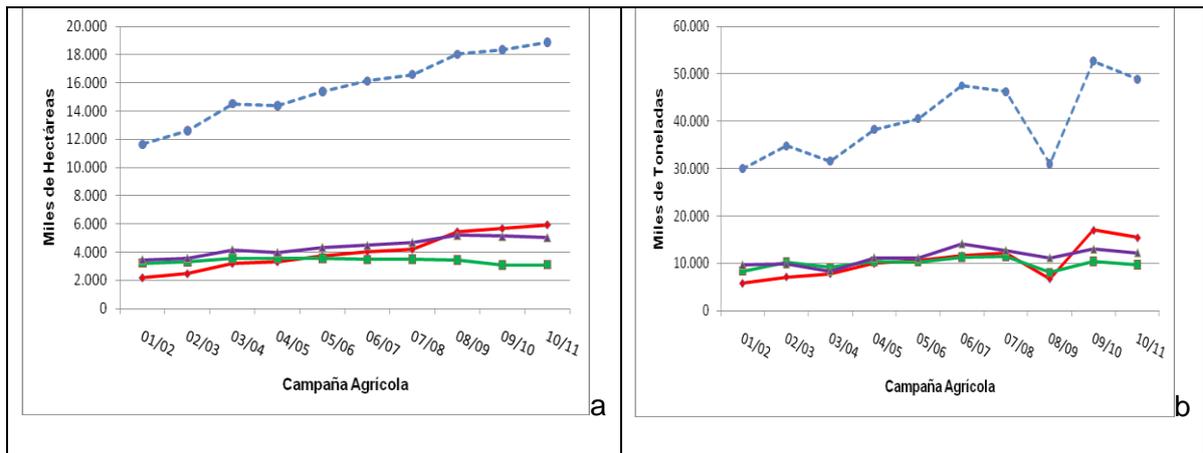


Fig. 1. Evolución del área sembrada (a) y de la producción física de granos (b) de Buenos Aires (línea continua roja), Santa Fe (línea continua verde), Córdoba (línea continua violeta) y Argentina (línea punteada azul). Fuente: SAGPyA (2011).

En Argentina, las principales firmas exportadoras de granos de soja son Cargil, Bunge, Dreyfus, Toeffler y ADM Argentina (Fig 2), las que concentran el 70% del volumen exportado de grano (SAGPyA, 2011). Respecto a la exportación de productos derivados a nivel nacional, Aceitera General Deheza (AGD) es tercer exportador de harina luego de Bunge y Cargill, y cuarto exportador de aceite luego de Dreyfus, Bunge y Cargill (Fig. 2).

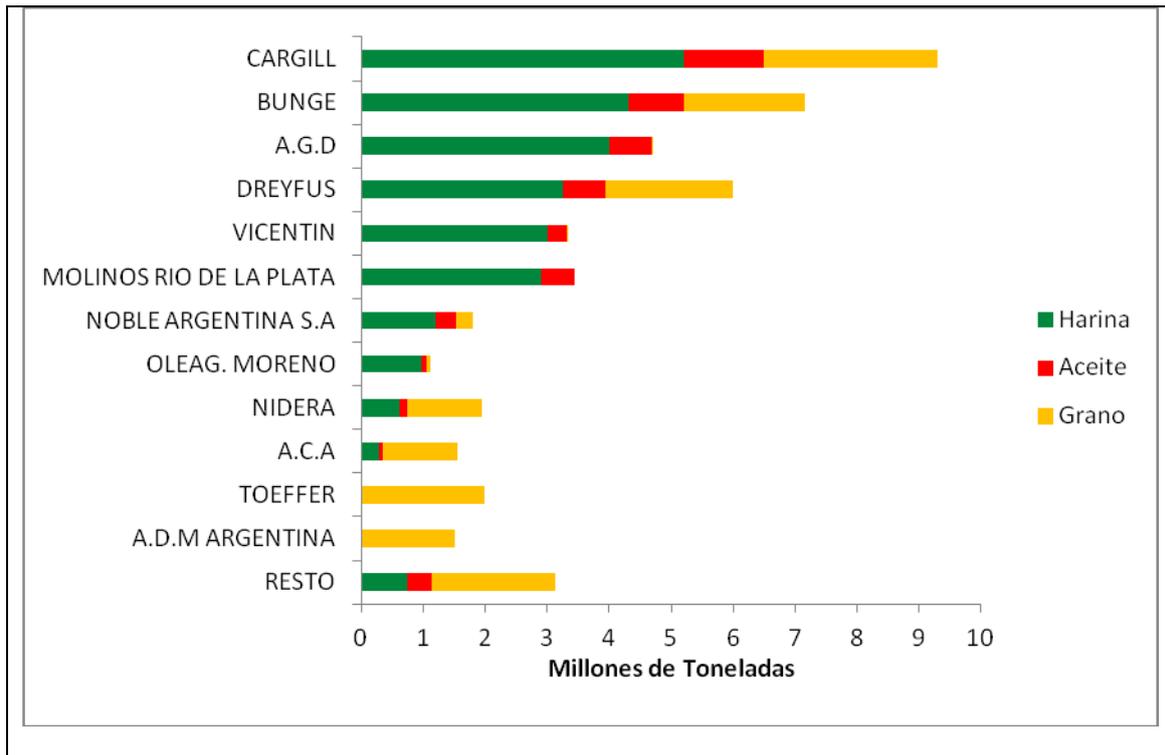


Fig. 2. Principales empresas exportadoras del complejo soja en Argentina. Grano= barras amarillas; harina= barras verdes y aceite= barras rojas. Fuente: SAGPyA (2011).

1.2. Mancha Ojo de Rana (*Cercospora sojina* K. Hara): Patógeno, Síntomas, Ciclo de la Enfermedad y Daños

La región sojera argentina cubre una extensa área ecológica que se extiende desde la latitud 23° a la 39° Sur (desde Salta hasta el sur de Buenos Aires), comprendiendo un rango amplio de condiciones ambientales. Diferentes variedades de soja que involucran grupos de madurez desde el II al IX encuentran ambientes adecuados en el país, con fechas de siembra que van desde septiembre a febrero. El cultivo se realiza mayoritariamente bajo secano y crece en condiciones ambientales muy contrastantes en términos de precipitaciones, radiación solar y temperatura (Carrera *et al.*, 2009) que influyen en el desarrollo y prevalencia de diversas enfermedades, principalmente fúngicas. Éstas constituyen una de las principales limitantes del cultivo, afectando no sólo la cantidad sino también la calidad de la producción obtenida.

El impacto de las enfermedades fúngicas sobre el rendimiento y la calidad de soja se favoreció en parte debido a la generalización del sistema de siembra directa o con cubierta de rastrojos, al monocultivo de soja, a la siembra de genotipos de alta uniformidad en grandes extensiones y a la baja disponibilidad de cultivares con resistencia a la mayoría de las enfermedades, entre otros factores (Carmona, 2005). Aunque, el cambio climático es considerado como otro factor que también contribuyó a acentuar el efecto de las enfermedades fúngicas sobre el rendimiento y la calidad de soja (Carmona, 2005), pocos son los estudios que cuantifican los posibles impactos de dicho factor sobre la prevalencia de plagas y enfermedades (Jarvis *et al.*, 2010). Los efectos del cambio climático mundial sobre las enfermedades fúngicas son sutiles, progresivos y difíciles de documentar debido a la escasez de datos acumulados en el tiempo, es decir de largo plazo (Jeger y Pautasso, 2008), dando lugar a incertidumbre sobre posibles escenarios futuros. Además, resulta difícil separar los efectos del cambio climático sobre parámetros que afectan a las enfermedades fúngicas, de las variaciones estacionales normales (Lègreve y Duveiller, 2010).

Durante las últimas campañas, adquirieron importancia un grupo de enfermedades que conforman el denominado complejo de enfermedades de fin de ciclo (EFC), que afectan al cultivo de soja preferentemente en los estadios reproductivos. Dentro de este complejo tradicionalmente se incluye a la mancha ojo de rana (MOR) (Díaz *et al.*, 2005), aunque resulta importante aclarar que a diferencia del resto de las EFC, MOR suele aparecer en etapas tempranas del ciclo del cultivo. El agente causal de dicha enfermedad es el hongo *Cercospora sojina* K. Hara, reportado por primera vez en soja cultivada en Japón en 1915 (Lehman, 1928 citado de Mian *et al.*, 2008) y en USA en 1924 (Melchers, 1925 citado de Mian *et al.*, 2008). Esta enfermedad es común en la región sojera argentina y fue citada por primera vez en 1983 en la región centro de Córdoba (Giorda y Justh, 1983). Durante los años posteriores su ocurrencia fue esporádica, pero aumentando su prevalencia (proporción de plantas enfermas en una población en un determinado momento) en provincias como Entre Ríos, Córdoba, Santa Fe y Buenos Aires. Durante la campaña 2008/2009 intensos

ataques se manifestaron principalmente en la provincia de Córdoba y Santa Fe (Carmona y Scandiani, 2009), ocasionando severas pérdidas de rendimiento en aquellos lotes sembrados con variedades susceptibles, principalmente del GM III, IV y V (Carmona *et al.*, 2011). En años recientes, el aumento de la prevalencia, incidencia y severidad fue notable y significativo en la región pampeana (Carmona, Grosso y Ponzio, datos no publicados citado por Carmona *et al.*, 2010). Es posible que la combinación del uso de cultivares susceptibles de soja junto a la práctica de siembra directa (que deja restos vegetales infestados sobre la superficie del suelo) hayan contribuido a la expansión de MOR.

Las EFC como MOR, reducen el área foliar verde fotosintética a través de lesiones necróticas y/o defoliación prematura en consecuencia, disminuyen la cantidad de radiación absorbida por el cultivo, precisamente durante la etapa más crítica para la determinación del rendimiento, cuando el cultivo está fuertemente limitado por fuente (*i.e.* fotoasimilados requeridos para sostener el crecimiento de los granos), comprometiendo seriamente el rendimiento (Borrás *et al.*, 2004). En Nigeria se estimaron pérdidas de rendimiento atribuidas a MOR en el rango de 44 al 60% (Akem y Dashiell, 1994; Dashiell y Akem, 1991). En Zambia, los daños registrados oscilaron entre 30,5 y 37,2% (Mwase y Kapooria, 2001). Un estudio comparativo entre cultivares resistentes y susceptibles a MOR conducido en USA (Mian *et al.*, 1998), indicó que los cultivares susceptibles sufrieron pérdidas de rendimientos significativas de hasta 31% comparadas con los cultivares resistentes. En Argentina, durante la campaña 2008/2009, estimaciones realizadas en algunos lotes del sudeste de la provincia de Córdoba evidenciaron pérdidas de rendimiento que variaron entre 22% y 15% (Distéfano *et al.*, 2009). La evaluación de 24 cultivares de soja de los GM III y IV, determinó que el 12,5% de los mismos manifestó pérdidas promedio de 17,3 kg/ha, el 37,5% presentó daños estimados en 410 kg/ha y finalmente, el 50% restante exhibió una disminución del rendimiento promedio de 685 kg/ha (Distéfano y Gadban, 2009b).

El inóculo primario y secundario del hongo está constituido por conidios que son producidos en residuos foliares y caulinares o en semillas infectadas (Phillips, 1999). La

enfermedad se presenta principalmente en el follaje de la soja, a pesar de que las semillas, vainas y tallos también pueden infectarse (Sinclair y Backman, 1989 citado por Phillips, 1999). La infección puede ocurrir en cualquier estado fenológico del cultivo; sin embargo, los síntomas se observan normalmente después de la floración y se hacen muy evidentes desde R3 (inicio de formación de vainas) en la escala de Fehr y Caviness (1977) (Phillips, 1999). Las lesiones son manchas circulares o angulares con diámetros que oscilan desde 1 hasta 5 mm (Grau *et al.*, 2004) (Fig. 3a). Las lesiones pueden cubrir más del 30% de la superficie foliar, causando defoliación prematura. Las lesiones en tallos y vainas (Fig. 3b) son menos frecuentes y generalmente aparecen tardíamente, al final del ciclo del cultivo. El hongo puede penetrar a través de las paredes de la vaina e infectar las semillas maduras (Phillips, 1999). Los síntomas en las semillas aparecen como áreas claras a oscuras grises o marrones que pueden ir desde puntos a grandes manchas que cubren la cubierta de la semilla entera (Bisht y Sinclair, 1985 citado por Carmona *et al.*, 2010).

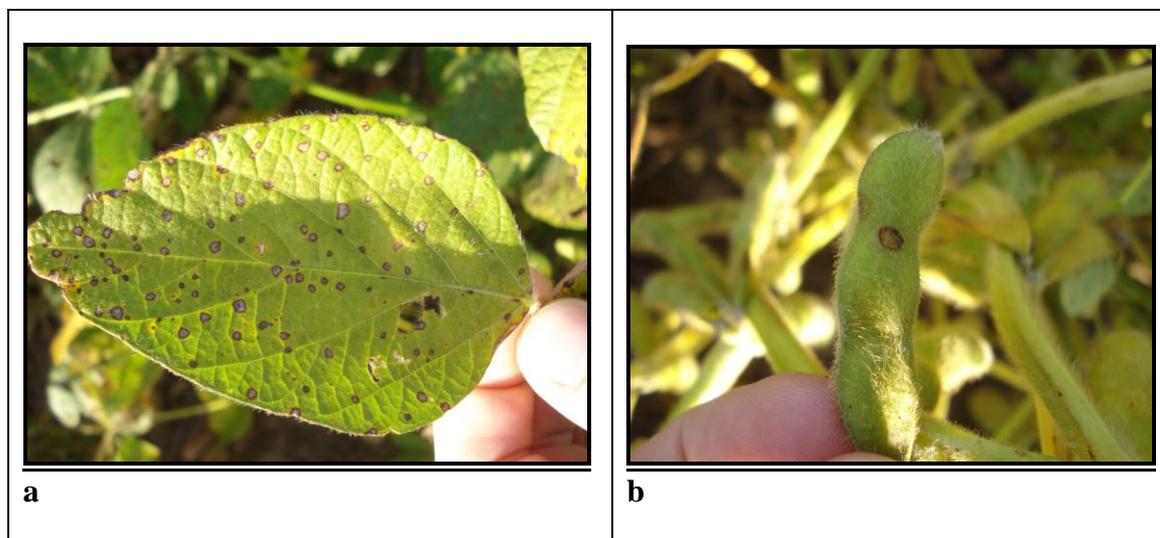


Fig. 3. Lesiones características de mancha ojo de rana resultantes de la infección de *Cercospora sojina* (a) lesiones en un folíolo de soja (b) lesiones en una vaina de soja.

El hongo inverna en semillas y en rastrojo de soja infectados. Las plántulas de semillas infectadas son por lo general débiles y raquíticas, con lesiones en los cotiledones. Las esporas producidas en los cotiledones infectados se convierten en inóculo que pueden

infectar hojas jóvenes (Mian *et al.*, 2008). La temperatura óptima de germinación y crecimiento del micelio sobreviviente en rastrojo así como la de esporulación es de 25°C (Cruz y Dorrance, 2009). Los conidios, inóculo de la enfermedad, se producen 48 h luego de la aparición de los primeros síntomas visibles si la temperatura se encuentra dentro del rango de 25°C - 30°C y la humedad relativa del ambiente es mayor a 90% (Mian *et al.*, 2008). Los conidios producidos por el hongo son diseminados a plantas sanas por el viento y el salpicado de lluvias (Distefano y Giorda, 1997). La proximidad entre lotes de producción favorece la diseminación de un campo infectado hacia otro libre de la enfermedad. La diseminación a gran distancia se produce a través de semillas infectadas (Carmona *et al.*, 2010).

1.3. Mancha Ojo de Rana (*Cercospora sojina* K. Hara): Manejo y Control de la Enfermedad

A pesar de que la aplicación de fungicidas del grupo de las estrobilurinas + triazoles es una medida eficaz en el control de MOR y puede sostener el rendimiento, el uso de cultivares resistentes es un enfoque no sólo de bajo costo, sino también ambientalmente amigable para el manejo de la enfermedad (Akem, 1995; Yang y Weaver, 2001). Actualmente el Comité de Genética del Cultivo de Soja advierte que la resistencia a *C. sojina* es conferida por tres genes. El primero es el *Rcs1* identificado en la variedad "Lincoln", primer gen hallado que confería resistencia a la raza 1 de *C. sojina*, el segundo es el *Rcs2* que otorga resistencia a la raza 2 identificado en la variedad "Kent", y el tercero *Rcs3* identificado en la variedad "Davis" es un gen que confiere resistencia para la raza 5 y para todas las otras razas de *C. sojina* conocidas en los Estados Unidos, así como a todas las cepas conocidas de Brasil (Yang y Weaver, 2001; Mian *et al.*, 2008).

Dashiell y Akem (1991) observaron pérdidas de rendimiento debidas a *C. sojina*, algunos cultivares de soja eran más afectados por MOR que otros. Mian *et al.* (1998) en presencia de MOR, observaron en cuatro cultivares de soja de GM VII hasta 31% de

pérdidas de rendimiento, mientras que sus respectivas líneas isogénicas conteniendo Rcs3 fueron resistentes a las razas predominantes de MOR en todos los ambientes evaluados. Interesantemente, en ausencia significativa de MOR, cada línea isogénica con dicho gen manifestaba un rendimiento similar a su respectiva línea susceptible. Un estudio más reciente (Yang y Weaver, 2001) donde se evaluó resistencia a MOR en todas las líneas PI (*Plant Introduction*) de soja de los GM VI y VII, reveló que seiscientos sesenta líneas (39,3%) fueron resistentes y doce fueron consideradas altamente resistentes o inmunes, dado que permanecieron completamente libres de enfermedad después de repetida la inoculación. Concluyendo que habría resistencia suficiente a MOR dentro de la colección de germoplasma de soja del USDA (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos), pudiendo ésta contener genes únicos de resistencia, diferentes a los tres conocidos. Si bien, como se mencionó anteriormente el uso de variedades resistentes es una de las principales medidas de control para esta enfermedad, la oferta de estas variedades en los grupos de madurez más sembrados en la región pampeana central de Argentina es aún escasa (Distéfano y Gadbán, 2009a).

Otras medidas de control de MOR incluyen la rotación de cultivos durante 2 años y el entierro profundo de los rastrojos, para reducir la incidencia de la enfermedad (Grau *et al.*, 2004; Phillips, 1999). También el uso de prácticas culturales como la elección de fechas de siembra resulta importante. Siembras tardías estuvieron asociadas a disminuciones en los niveles de severidad de *C. sojina* (Gonzalez, 2011), lo que podría deberse al menor porte y consecuentemente menor cobertura alcanzados por las plantas (Maldonado *et al.*, 2009 citado de Gonzalez, 2011). Esto evita un ambiente con humedad suficiente para la infección del patógeno en la planta a la vez, que el cultivo se desarrolla con temperaturas más frescas, menos favorables para MOR. Es importante también utilizar semillas de buena calidad libres del patógeno y tratarlas con fungicida para disminuir la presión del inóculo en el lote.

En los casos en que el nivel de resistencia genética no fuera suficiente para evitar pérdidas económicas causadas por las enfermedades, o bien el tratamiento de semillas y las demás prácticas culturales no reduzcan o eliminen el inóculo de los patógenos, el control químico, vía pulverización en los órganos aéreos es una medida de control rápida, a pesar de que aumenta el costo de producción y el riesgo de contaminación ambiental (Kantolic y Carmona, 2005). La aplicación de fungicidas foliares es una alternativa viable para disminuir el impacto de MOR, la decisión de aplicación y del tipo de producto a utilizar dependerá de los niveles de incidencia y severidad, el estado fenológico del cultivo, estado general del lote y las condiciones ambientales (Distefano *et al.*, 2010). Los antecedentes indican que las aplicaciones de fungicidas foliares pueden producir incrementos del rendimiento, respecto de cultivos enfermos, cuando las condiciones ambientales favorecen el desarrollo de enfermedades, principalmente a través de un aumento en el peso del grano (Couretot *et al.*, 2009).

Los tratamientos químicos se realizan generalmente entre final de floración e inicio de formación de granos (R2-R5) (Grau *et al.*, 2004) con el objetivo de eliminar el parasitismo y preservar el área foliar verde generadora de fotoasimilados y aumentar la capacidad de captación de los recursos. De esta forma, el cultivo se mantendrá por más tiempo en niveles superiores al IAF crítico (índice de área foliar que maximiza la captura de luz en el cultivo) maximizando la tasa de crecimiento, lo que generará, en ausencia de otros stresses, mayores rendimientos (Kantolic y Carmona, 2005). Algunos autores consideran eficiente el uso de mezclas de estrobilurinas y triazoles en R3 (Canale *et al.*, 2010; Carmona *et al.*, 2011) o en R4 (Distéfano *et al.*, 2010), otros no encuentran diferencias entre las aplicaciones realizadas en R3 y las llevadas a cabo en R5 (Couretot *et al.*, 2009) y finalmente existen autores que obtuvieron los mejores resultados con las dobles aplicaciones ya sea en R1+R3 o en R3+R5 (Distéfano y Gadbán, 2009a). La aplicación de fungicidas entre R2-R5 no siempre tiene un efecto significativo sobre el rendimiento, siendo importante considerar aspectos de la enfermedad (incidencia, severidad) y del cultivo (nivel de rendimiento, área foliar remanente,

ocurrencia de otro estrés) que modulan el nivel de respuesta del rendimiento. Arias (2004) encontró que la aplicación de fungicidas para el control de EFC en soja en los estadios fenológicos de R3.4, R5.4 o en combinaciones de ambos momentos, no produjo diferencias significativas de rendimiento con respecto al testigo sin tratar. De lo anterior surge la multiplicidad de bibliografía que aborda el efecto de tratamientos fungicidas en términos de protección de rinde, referida principalmente al momento ontogénico óptimo para la aplicación de dichos tratamientos, aspecto acerca del cual los diversos trabajos son poco concluyentes y hasta inconsistentes, no quedando claro además, si es suficiente realizar una aplicación en un determinado momento durante el ciclo del cultivo o si son necesarias aplicaciones múltiples.

1.4. Mancha Ojo de Rana (*Cercospora sojina* K. Hara): Efectos Sobre la Calidad del Grano

En los cultivos de grano, no sólo el rendimiento es afectado por las enfermedades de fin de ciclo, también la composición química del grano puede afectarse. Existen antecedentes del efecto de enfermedades foliares sobre el contenido de proteína del grano de trigo y/o cebada. Dimmock y Gooding (2002) reportaron que el contenido de proteína en el grano de trigo a menudo disminuye ante infecciones tanto de *Puccinia* spp. como de *Erysiphe graminis*, debido a que las infecciones con roya u oidio de los cereales pueden resultar más perjudiciales para la acumulación y partición de nitrógeno en el grano que para la acumulación de materia seca. *Septoria* spp. ejerce un efecto contrario sobre la proteína del grano, aumentando el contenido de la misma ante infecciones con dicha enfermedad (Dimmock y Gooding, 2002). Estos autores sugieren, apoyados por numerosos reportes anteriores, que la diferencia antes mencionada entre *Puccinia* y *Erysiphe* respecto a *Septoria* estaría dada por las distintas estrategias de infección que utilizan dichas enfermedades, ya que mientras las dos primeras son biotróficas, *Septoria* es necrotrófica,

afectando diferencialmente la capacidad de fotosintetizar y de traslocar nitrógeno al grano. Las enfermedades necrotróficas no interfieren significativamente con la traslocación pero afectan la oferta general de asimilados mediante la reducción de la capacidad fotosintética de la planta a través de la destrucción de los tejidos foliares (Scharen *et al.*, 1975 citado por Dimmock y Gooding, 2002).

La mayor habilidad de los patógenos biotróficos de redireccionar nitrógeno hacia los tejidos enfermos y luego retenerlo en dichos tejidos comparada con los granos, contrasta fuertemente con la estrategia de las enfermedades necrotróficas de destruir la capacidad fotosintética causando, por lo tanto un efecto mucho mayor sobre la acumulación de carbono que sobre la de nitrógeno (Dimmock y Gooding, 2002). En el caso de MOR en el cultivo de soja, la enfermedad es necrotrófica por lo que podría esperarse que ataques severos causados por *C. sojina* causen disminuciones en la concentración de aceite del grano, resultando indirectamente en un aumento de la concentración final de proteína en dicho grano, dado que la síntesis de aceite por la semilla depende principalmente de la fijación actual de carbono durante el llenado de granos (Rotundo y Westgate, 2008) y como se explicó anteriormente las enfermedades necrotróficas destruyen la capacidad fotosintética de la planta.

Resulta importante destacar que los antecedentes mencionados en soja respecto del efecto de MOR y la aplicación de fungicidas han evaluado únicamente el rendimiento y, en el mejor de los casos, también sus componentes. Al presente, no existen estudios publicados que hayan evaluado el efecto de MOR sobre la composición química del grano de soja, especialmente en lo relativo al contenido de proteína y aceite. Su estudio podría proporcionar información útil para implementar y facilitar la adopción de prácticas de manejo tendientes a alcanzar no sólo altos rendimientos sino también obtener productos de alta calidad industrial. El éxito en el control de enfermedades se logra con la aplicación de un conjunto de medidas enmarcadas dentro del manejo integrado, que incluyan además del control químico, el cultural, genético y biológico.

2. HIPÓTESIS

I. Una única aplicación de fungicida a base de triazol + estrobilurina, en el estadio fenológico de inicio de formación de vainas (R3), es suficiente para disminuir la incidencia de *C. sojina* a niveles que eviten mermas del rendimiento y deterioro de la calidad industrial del grano de soja.

II. El efecto de un ataque de MOR sobre el rinde y la calidad es diferente dependiendo del grado de susceptibilidad del genotipo a la enfermedad.

III. La concentración de aceite del grano de soja disminuye ante la incidencia de *Cercospora sojina* durante la etapa reproductiva del cultivo.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Estudiar el impacto de la enfermedad mancha ojo de rana (*C. sojina*) sobre el rendimiento y calidad industrial del grano de soja en genotipos contrastantes en susceptibilidad a MOR, analizando la respuesta a distintos momentos de aplicación durante el ciclo reproductivo del cultivo.

3.2. Objetivos específicos

I. Determinar el rendimiento y la concentración de aceite y proteína en genotipos de soja contrastantes en susceptibilidad a MOR.

II. Establecer si un único momento de aplicación, en inicio de formación de vainas, es suficiente para disminuir el daño ocasionado por MOR evitando pérdidas del rendimiento y de calidad del grano.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Diseño Experimental y Tratamientos

Se realizó un ensayo bajo secano durante la campaña agrícola 2010-2011, utilizando 2 cultivares comerciales transgénicos de soja resistentes a glifosato, ambos correspondientes al grupo de madurez III: DM 3700 RR y DM 3810 RR. Estos cultivares presentan caracteres diferenciales en cuanto a su comportamiento a mancha ojo de rana (Tabla 1). El ensayo fue sembrado manualmente el 19 de diciembre del 2010, en la localidad de Oncativo (Córdoba), en un lote con suelo tipo franco-limoso de la serie Oncativo (Haplustol Éntico). El cultivo antecesor en dicho campo fue soja (*Glycine max* (L) Merr.). Se utilizó un diseño estadístico de bloques en parcelas divididas con arreglo en franjas, con tres repeticiones, donde las parcelas principales fueron las variedades y las secundarias los tratamientos con la mezcla de fungicidas. Para la aleatorización de los tratamientos se utilizó el software Research Randomizer (2011). El tamaño de cada parcela (unidad experimental), fue de cuatro surcos a 0,52m por 2 m de largo, con una densidad final aproximada de 36 plantas m² (Fig. 4 a y b), se tomaron los dos surcos laterales como bordura.

Tabla 1. Caracterización agronómica y grado de susceptibilidad a MOR según escala propuesta por Distéfano *et al.* (2010) de los dos cultivares comerciales transgénicos evaluados a campo.

Genotipo	Grupo de Madurez	Hábito de Crecimiento	Color de Flor	Color de Pubescencia	Mancha Ojo de Rana
DM 3700 RR	3,6	Indeterminado	Púrpura	Castaño Claro	4,58
DM 3810 RR	3,8	Indeterminado	Púrpura	Castaño Claro	1

Escala de 1 a 6, donde 1 = hoja sin manchas y 6 = 100% de las hojas con manchas. Fuente: Fuentes *et al.* (2010).



Fig. 4. a y b. Ensayo realizado a campo en condiciones productivas del centro de la provincia de Córdoba (Oncativo), utilizando un diseño estadístico de bloques en parcelas divididas con arreglo en franjas, con tres repeticiones. Campaña agrícola 2010-2011.

Para cada cultivar se realizaron cuatro tratamientos: T1= aplicación en R3; T2= aplicación en R3+R5; T3= testigo enfermo (sin aplicación de fungicida) y T4= testigo sano (aplicación cada 20 días a partir de R1). En la Fig. 5 se muestra el plano del ensayo realizado a campo. Las aplicaciones se realizaron en las siguientes fechas: R1: 22 de enero; R3: 05 de febrero; R5: 16 de febrero y R7: 31 de marzo (año 2011). Se eligieron dichos estadíos reproductivos para realizar las aplicaciones siguiendo la recomendación reportada en la literatura (Swoboda y Pedersen, 2009; Soto Arias y Munkvold, 2011), para poder posteriormente comparar los resultados obtenidos con trabajos previos. Se pulverizó con un fungicida comercial compuesto por una mezcla de triazol y estrobilurina más el agregado de aceite agrícola al 1% del volumen total de aplicación, siguiendo la dosis recomendada por CASAFE (2011). Estos dos fungicidas son los más frecuentemente utilizados debido a su amplio espectro de actividad y residualidad entre otras características (Munkvold, 2009; Swoboda y Pedersen, 2009; Soto Arias y Munkvold, 2011). La aplicación se realizó con una mochila manual (Giber, Buenos Aires, Argentina) de 20 lts de capacidad, a una presión de 4 bares provista por CO₂, utilizando pastillas de cono hueco con un caudal equivalente a 200 lts caldo Ha⁻¹. Para lograr una mejor interpretación de los parámetros incidencia y severidad de la enfermedad, se registraron diariamente los datos de temperatura media diaria del aire, obtenidos en la estación meteorológica del INTA Manfredi ubicada a 8 km de distancia del ensayo. El registro de las precipitaciones fue obtenido a partir de un pluviómetro colocado cerca del ensayo (a menos de 500 metros). La cosecha del ensayo se realizó el 10 de abril del 2011, cuando las parcelas alcanzaron la humedad de cosecha, en forma manual cortando las plantas a nivel del suelo y tomando los dos surcos centrales de cada tratamiento. Posteriormente se procesaron las muestras en una trilladora experimental estacionaria (Forti, Pergamino, Argentina).

Fig. 5. Plano del ensayo realizado a campo durante la campaña agrícola 2010/11.

REP 3	B	T3 DM3700RR	B	T4 DM3700RR	B	T1 DM3700RR	B	T2 DM3700RR	B
	Camino								
	B	T3 DM3810RR	B	T4 DM3810RR	B	T1 DM3810RR	B	T2 DM3810RR	B
Camino									
REP 2	B	T4 DM3810RR	B	T1 DM3810RR	B	T2 DM3810RR	B	T3 DM3810RR	B
	Camino								
	B	T4 DM3700RR	B	T1 DM3700RR	B	T2 DM3700RR	B	T3 DM3700RR	B
Camino									
REP 1	B	T1 DM3810RR	B	T4 DM3810RR	B	T3 DM3810RR	B	T2 DM3810RR	B
	Camino								
	B	T1 DM3700RR	B	T4 DM3700RR	B	T3 DM3700RR	B	T2 DM3700RR	B

B=Bordura; T=Tratamientos; Rep=Repetición; T1= aplicación en R3; T2= aplicación en R3+R5; T3= testigo enfermo (sin aplicación de fungicida) y T4= testigo sano (aplicación cada 20 días a partir de R1).

4.2. Variables Medidas

El cultivo fue realizado según las prácticas de manejo recomendadas para la región. Estas prácticas incluyeron el control de malezas e insectos para prevenir reducciones de rendimiento debido a estos factores bióticos. Durante el ciclo de cultivo se determinaron los estadios fenológicos de: (R1) inicio de floración, (R3) inicio de formación de vainas, (R5) inicio de llenado de granos, (R7) madurez fisiológica; según la escala de Fehr y Caviness (1977) (Fig. 6).

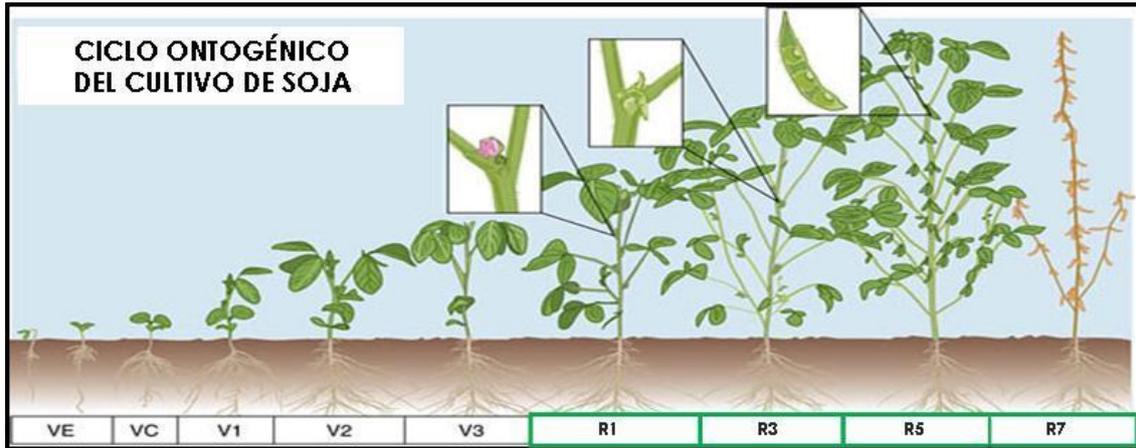


Fig. 6. Esquema del ciclo ontogénico del cultivo de soja. Se representa la morfología de las plantas y el estado de los órganos reproductivos más avanzados de los nudos superiores del tallo principal. Se señalan algunos estadios de desarrollo según la escala de Fehr y Caviness (1997). VE: emergencia; VC: estado cotiledonar; V1: 1er nudo; V2: 2do nudo; V3: 3er nudo; R1: inicio de floración; R3: inicio de formación de vainas; R5: inicio del llenado de granos; R7: madurez fisiológica.

Tanto la severidad como la incidencia se utilizan generalmente como medida de la evolución del daño por enfermedades foliares como las EFC, (McRoberts et al., 2003). En cada estadio fenológico se determinó el nivel de severidad de la enfermedad visualmente, de la siguiente forma: en los surcos centrales se seleccionaron folíolos del estrato superior, medio e inferior estimando el porcentaje del área dañada de cada folíolo. Los datos generados dentro de cada unidad experimental fueron promediados para obtener un único valor porcentual de dicha variable. El nivel de incidencia se determinó como la proporción de plantas enfermas del total evaluado. A su vez, a partir de los valores de severidad medidos se obtuvo el valor de severidad categórica correspondiente a la escala MOR propuesta por Distéfano *et al.* (2010) (Fig. 7).

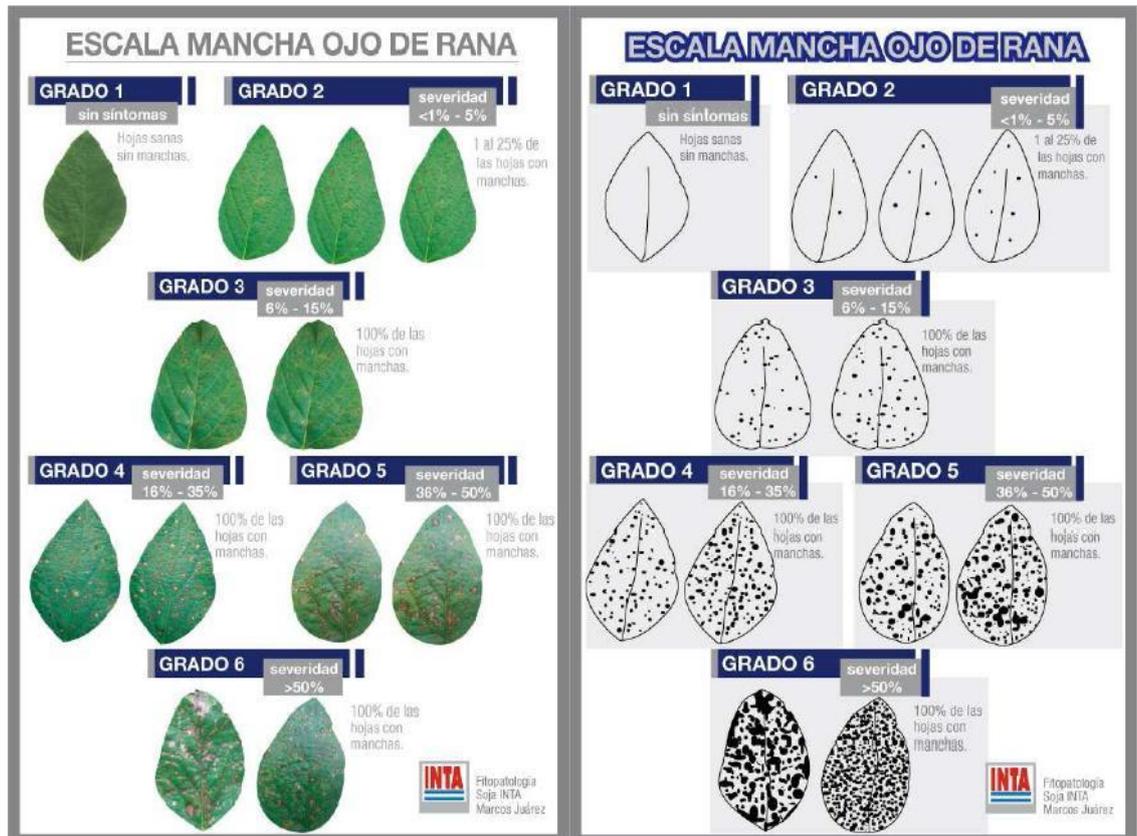


Fig. 7. Escala de severidad para mancha ojo de rana propuesta por Distéfano *et al.* (2010).

Las concentraciones de proteína (Pr) y aceite (Ac), expresadas como porcentaje de materia seca, fueron determinadas por espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRs) utilizando un equipo Instalab 600 (Dickey Jhon, Minneapolis, USA) y siguiendo los métodos propuestos por AACC (*American Association of Cereal Chemists*) (2000). Estas determinaciones fueron llevadas a cabo en el Laboratorio de Calidad Industrial de la Aceitera General Deheza, ubicado en la Localidad de Gral. Deheza, Córdoba, Argentina. Para tales análisis, en dicho laboratorio, se usó una muestra de grano de 100 g proveniente de cada repetición de los diferentes cultivares y tratamientos.

4.3. Análisis de los datos

Se construyó una base de datos incluyendo para las 2 variedades evaluadas, los valores de: rendimiento ajustado a la humedad base del cultivo (13,5%) (kg ha^{-1}), peso de mil semillas (gramos) ajustado a la humedad base (PMAj), número de grano por m^2 (NGm^2) porcentaje de severidad e incidencia para cada estado fenológico medido y valores de proteína y aceite (expresados como porcentaje en base seca). Los componentes de rendimiento fueron determinados de la siguiente manera: el peso de mil semillas se calculó para cada tratamiento y repetición tomando una muestra de las semillas cosechadas y contando mil semillas a través de un contador de semillas modelo *count a pack* (Seedburo, USA). Se pesaron las mil semillas contadas y se determinó la humedad de dicha muestra a través de un humidímetro para granos modelo Tesma A-79 (Tesma SAIC, Argentina). Posteriormente, se ajustó a la humedad base de comercialización (13,5%). El número de granos por unidad de superficie (m^2) se obtuvo dividiendo el rendimiento por el peso de mil granos.

Los datos obtenidos de los ensayos a campo se modelaron de acuerdo a un experimento bifactorial conducido según un diseño de bloques en parcelas divididas con arreglo en franjas con 3 repeticiones, donde la parcela principal correspondió a las variedades y la sub-parcela a los tratamientos de aplicación. El nivel de significación utilizado fue del 5%. La comparación de medias se realizó mediante la prueba estadística de la mínima diferencia significativa (LSD) de Fisher. Para ajustar el modelo estadístico, se utilizó un enfoque de modelos lineales y mixtos. Para ello se utilizó la función *lme* de la librería *nlme* de R version 2.2.11 (R Development Core Team, 2010), mediante la interfaz implementada en InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2010). Para las variables rendimiento ajustado, NGm^2 , PMAj, Pr y Ac, el modelo estadístico incluyó una función de varianza para contemplar que las varianzas residuales aumentaban con el valor medio de respuesta.

Se estudió la relación entre el porcentaje de severidad de MOR medido en el estadio fenológico de R7 y el rendimiento de ambos cultivares considerando los 4 tratamientos a través de un análisis de regresión lineal. También se ajustaron regresiones lineales para analizar asociaciones del rendimiento en función de sus componentes número y peso de granos. Se utilizó un nivel de significancia de 0,05 para identificar las variables regresoras estadísticamente significativas. El estadístico Cp de Mallows fue utilizado como indicador de la contribución de las variables explicativas o regresoras en el ajuste de los modelos de regresión encontrados.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5. 1. Condiciones Ambientales Durante el Ensayo

En la Tabla 2 se presentan la precipitación y el promedio de la temperatura media diaria del aire mensual durante el ciclo del cultivo de soja en la campaña 2010-2011 para la localidad de Oncativo (Córdoba) donde se realizó el ensayo. En la misma se puede observar que la precipitación durante los meses en que se realizaron las observaciones de niveles de enfermedad (febrero y marzo) fue levemente menor a la media de 35 años; mientras que, la temperatura fue menor a dicha media. Así, los niveles de precipitación ligeramente inferiores combinados con temperaturas menores al promedio de los años, generaron condiciones menos propicias para el desarrollo de la enfermedad que los que se podrían observar en años más húmedos y cálidos. Es importante destacar como se mencionó en la Introducción (sub-sección 1.2) que la aparición de los primeros síntomas visibles se produce si la temperatura se encuentra dentro del rango de 25°C - 30°C (Distefano y Giorda, 1997). Además, los dos genotipos involucrados en el estudio (DM3700 y DM3810) alcanzaron los estadios de R1, R3, R5 y R7 prácticamente en la misma fecha, por lo que ambos cultivares exploraron condiciones ambientales similares tanto en el estadio vegetativo como en el reproductivo.

Tabla 2. Precipitación (Pp) y promedio de la temperatura media diaria del aire mensual (Tm) para la campaña 2010-2011 del ensayo realizado en la localidad de Oncativo (Córdoba) y la media de 35 años para los mismos meses.

Año	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	Media	Suma
	Pp (mm)							
2010-2011	57	42	206	106	81	70		562
Media 35 años	103	140	120	98	104	60		625
	Tm (°C)							
2010-2011	19,6	23,4	23,6	20,8	19,3	17,3	20,7	
Media 35 años	20,3	22,6	23,4	22,1	20,5	17,1	21,0	

5.2. Presencia de MOR en Ambos Genotipos y Efectividad del Control Químico

Se registraron diferentes niveles de severidad de mancha ojo de rana en todos los tratamientos correspondientes al cultivar DM3700 (susceptible a MOR), excepto en aquel en el cual se aplicó el fungicida a intervalos constantes de 20 días (testigo sano) a partir del estado fenológico de R1 el cual exhibió hojas sin manchas de MOR. La severidad del ataque de MOR medida en los estadios fenológicos de R3, R5 y R7 fue similar en los tratamientos donde se aplicó una vez (R3) y dos veces (R3 y R5) en DM3700, presentando en promedio 6,6% y 5,7% del área foliar con manchas, respectivamente, correspondiéndose con el grado 3 Y 2 de la escala de Distéfano *et al.* (2010) (escala 1 al 6) respectivamente (Fig. 8). Por su parte, el tratamiento que no recibió aplicaciones (testigo enfermo) alcanzó valores promedio de severidad de 5,3 % (grado 2), 14,7 % (grado 3) y 37,3% (grado 5) en los estadios fenológicos de R3, R5 y R7, respectivamente (Fig. 7).

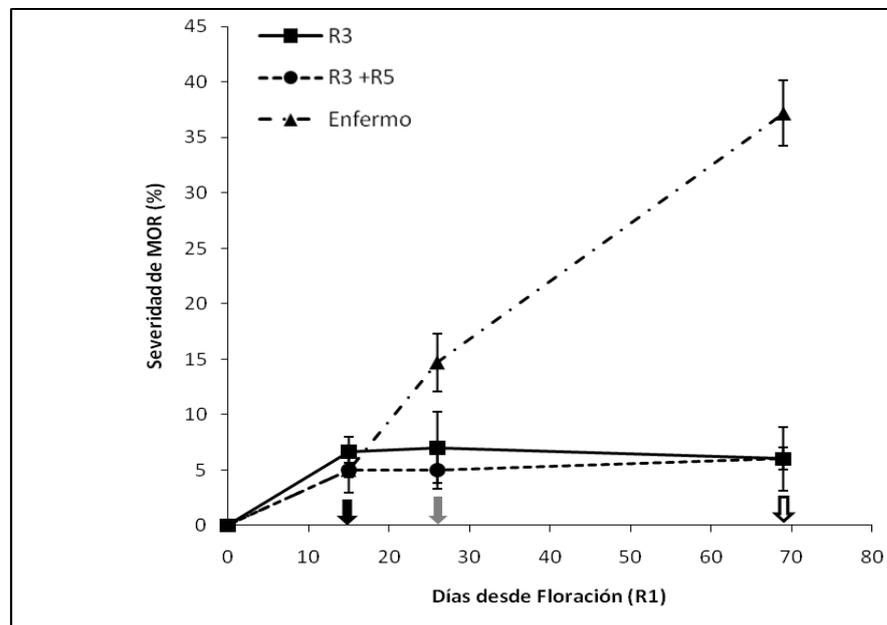


Fig. 8. Porcentaje de severidad de mancha ojo de rana (MOR) exhibido por DM3700 (cultivar susceptible) en tres tratamientos diferentes (testigo enfermo= triángulo y línea guión punto; aplicación en R3= cuadrado y línea llena; aplicaciones en R3 + R5= círculo y línea punteada), medidos en los estadios fenológicos de R3 (flecha negra), R5 (flecha gris) y R7 (flecha blanca). Las barras verticales en cada set de datos indican el error estándar de la media.

Los tratamientos que involucraron a DM3810 (resistente a MOR) no mostraron síntomas en las hojas. La diferencia tan marcada en el porcentaje de severidad observada

entre ambos cultivares de soja estaría sugiriendo que algunos genotipos podrían ser más afectados por MOR que otros. Más aun, la ausencia de síntomas en las hojas pertenecientes a DM3810 podría indicar resistencia a la enfermedad de dicho material. Los valores de severidad hallados en relación al comportamiento de los 2 cultivares analizados, son coincidentes con los observados por Fuentes *et al.* (2010) a través de la red de evaluación de cultivares de soja (RECSO) en la región pampeana argentina frente a MOR durante la campaña 2009-2010. Del mismo modo el cultivar DM3700 se presentó con nivel alto de MOR (grado 3, escala 0 a 4) en las localidades de Marcos Juarez, La Playosa, Corral de Bustos y Tio Pujio (Prov. de Córdoba) durante la campaña 2008-2009 (Distéfano, 2008). No obstante, Arias (2010b) evaluando el comportamiento de 20 cultivares comerciales de soja del GM III largo ante la presencia de MOR, encontró que no sólo DM3810 sino también DM3700 exhibieron valores bajos de severidad (grado 1 y 1.6, respectivamente; escala 1 a 5). Estas diferencias pueden deberse a que mientras los anteriores estudios presentaron resultados promedio considerando numerosas localidades de evaluación, Arias (2010b) concluyó sobre observaciones realizadas en lotes comerciales en una única localidad, Concepción del Uruguay (Prov. de Entre Ríos), en los cuales la enfermedad no alcanzó alta presión de inóculo durante dicha campaña 09/10. En Nigeria, Dashiell and Akem (1991) analizando la severidad de MOR en 3 cultivares de soja contrastantes en su respuesta a *C. sojina*, encontraron que dicha enfermedad fue significativamente menos severa en uno de los genotipos comparado con los otros dos. Manifestando el genotipo resistente (sin aplicación) una severidad promedio de 0,75 (escala 0-5) mientras que el genotipo sin aplicación más sensible a MOR alcanzó una severidad de 4,5 aproximadamente.

5.3. Efectos de MOR Sobre el Rendimiento de Soja

Los cuatro tratamientos que involucraron al genotipo DM3810 se caracterizaron por presentar ausencia de síntomas de la enfermedad en las hojas (severidad = 0%) y por ello exhibieron los rendimientos más elevados de alrededor de 3478 kg ha⁻¹. En la Fig. 9 se presenta la relación entre el porcentaje de severidad de MOR medido en el estadio fenológico de R7 y el rendimiento del cultivar susceptible DM3700 considerando los 4 tratamientos realizados. Se observó una correlación negativa entre la severidad del ataque de MOR y el rendimiento alcanzado por dicho cultivar, correspondiéndose los rendimientos más bajos de aproximadamente 2117 kg ha⁻¹ con los porcentajes más elevados de severidad (37,3% de manchas foliares) exhibidos por el testigo enfermo (sin aplicaciones) (Fig. 9), lo que indicaría que las variaciones en el rendimiento de DM3700 fueron debidas a los efectos de la enfermedad sobre dicho cultivar. La pendiente de la regresión fue de 26,75 kg/ha de pérdida de rendimiento por cada punto porcentual de aumento de la severidad de MOR en R7, lo que en términos porcentuales significa una caída del rendimiento del 0,85% por cada punto de aumento de la severidad, siendo una regla de fácil memorización para la estimación de pérdidas del rendimiento. No obstante, resulta importante aclarar que dicha relación lineal es sólo una primera aproximación a la cuantificación de la caída de rendimiento causada por MOR, sería aconsejable confirmar los efectos observados repitiendo el ensayo pero aumentando el número de repeticiones y luego ajustando un modelo mixto, con efectos fijos (genotipo) y aleatorios (severidad).

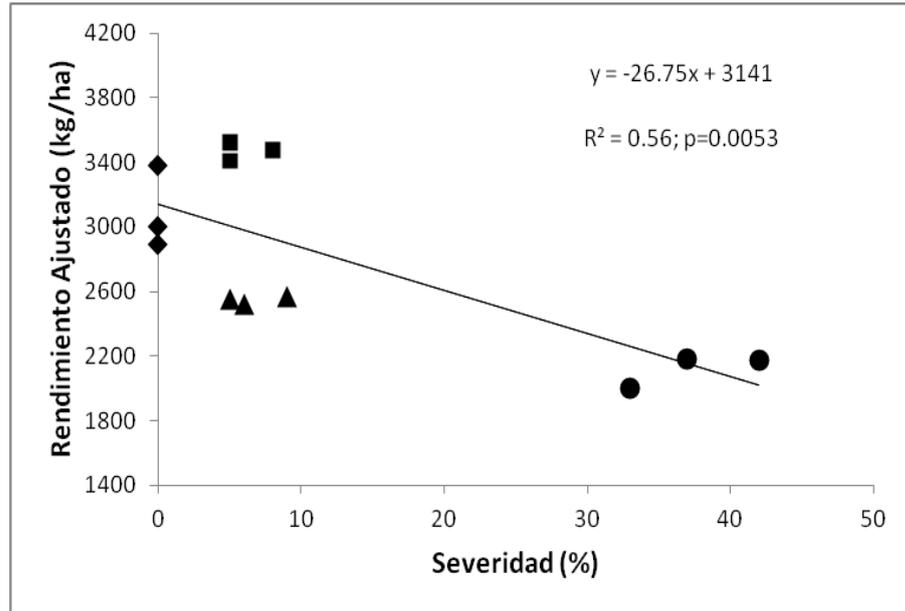


Fig. 9. Relación entre la severidad de MOR (porcentaje del área foliar con manchas) medido en el estadio fenológico de R7 y el rendimiento ajustado a la humedad base del cultivo (13,5%) (kg ha^{-1}) del cultivar DM3700, incluyendo los 4 tratamientos realizados (testigo sano= rombo, aplicación en R3= cuadrado, aplicaciones en R3 y R5= triángulo, testigo enfermo= círculo).

Estos resultados concuerdan con observaciones previas de estudios realizados a campo en distintas partes del mundo. En Nigeria, Dashiell y Akem (1991) también encontraron una correlación altamente significativa entre severidad de MOR y rendimiento. Comparando los rendimientos alcanzados a valores máximos y mínimos de severidad de MOR, estos autores encontraron que valores elevados de severidad de aproximadamente 4,5 (en una escala de 0-5) se correspondieron con los rendimientos más bajos (en promedio 576 kg ha^{-1}) en el cultivar más susceptible sin aplicaciones de fungicidas lo que representó una pérdida del 54% respecto al mismo cultivar pero que recibió dos aplicaciones y que rindió 1262 kg ha^{-1} . En Zambia, también el valor de severidad más elevado de 50,2% de área foliar dañada por MOR estuvo asociado al menor rendimiento (1456 kg ha^{-1}) en el genotipo más susceptible sin control químico, representando una merma de 37,2% comparado con el mismo cultivar pero tratado que rindió 2320 kg ha^{-1} (Mwase y Kapooria, 2001). En Argentina, la evaluación de 24 cultivares de soja de los GM III y IV, con y sin control químico determinó que en los testigos enfermos incrementos de severidad estaban

acompañados de aumentos en la pérdida de rendimientos. Así niveles de severidad de grado 1 estuvieron asociados con pérdidas promedio de 17,3 kg/ha, los de grado 2 con mermas de 410 Kg/ha y finalmente, los de grado 3 presentaron una disminución del rendimiento promedio de 685 kg/ha (Distéfano y Gadban, 2009b).

El aumento de severidad de MOR implica un aumento en la proporción del área foliar enferma respecto a la sana (McRoberts *et al.*, 2003), al tratarse de una enfermedad foliar necrotrófica, los sectores enfermos no poseen capacidad de fotosintetizar. Por lo tanto, al reducirse el área foliar verde fotosintética hacia el final del ciclo, disminuyen también la cantidad de radiación absorbida por el cultivo, precisamente durante la etapa más crítica para la determinación del rendimiento, cuando el cultivo está fuertemente limitado por fuente (*i.e.* fotoasimilados requeridos para sostener el crecimiento de los granos), comprometiendo seriamente el rendimiento (Borrás *et al.*, 2004 citado de Vilariño y Miralles, 2006) y resultando en la fuerte correlación negativa entre severidad y rendimiento observada en este trabajo y ampliamente documentada en la literatura.

5.4. Efectos de Cultivar, Tratamiento y de la Interacción entre Cultivar y Tratamiento sobre el Rendimiento y sus componentes

Los resultados de la ANAVA sugirieron que la interacción cultivar \times tratamiento fue estadísticamente significativa ($p < 0,0001$) tanto para rendimiento como para sus componentes (NGm² y PMAj). No hubo diferencias estadísticas en el rendimiento alcanzado por DM3810 (resistente) entre los diferentes tratamientos aplicados, exhibiendo este cultivar los rendimientos más elevados, que en promedio fueron de 3478 kg ha⁻¹ (Fig. 10). El cultivar susceptible DM3700 alcanzó rendimientos similares a DM3810 sólo cuando se aplicó la mezcla de fungicidas en R3 y cada 20 días apartir de R1 (Fig. 10), mostrando ambos tratamientos un incremento en el rendimiento de aproximadamente 35,5% comparado con

su testigo enfermo (Fig. 10).

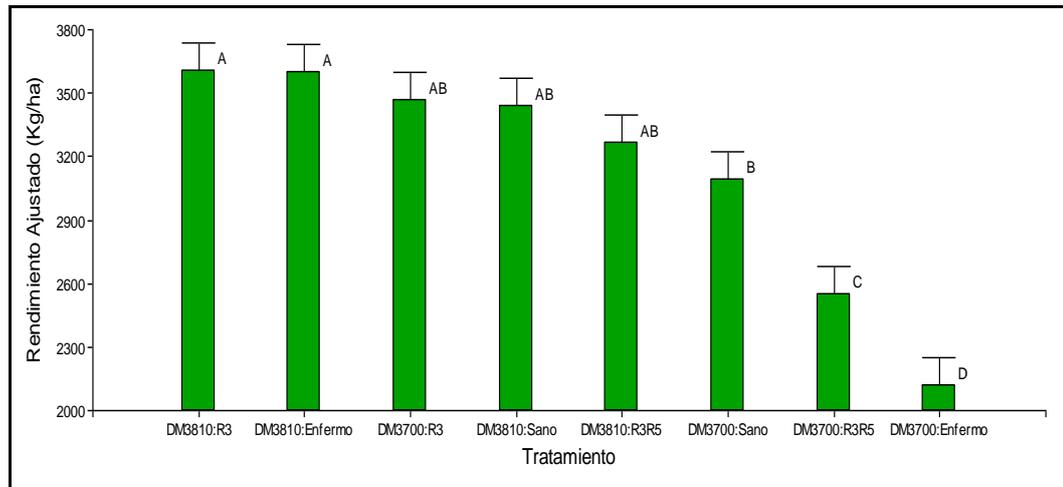


Fig. 10. Rendimiento ajustado (kg ha^{-1}) de la interacción cultivar (DM3700 y DM3810) \times tratamiento (testigo sano, aplicación en R3, aplicaciones en R3 y R5, testigo enfermo). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Las barras verticales indican el desvío estándar del conjunto total de datos.

Akem (1995) observó que para controlar MOR en cultivares de soja susceptibles a *C. sojina* los mejores resultados se alcanzaban cuando las aplicaciones se realizaban entre R1 y R3 manifestándose en diferencias de rendimientos de hasta 556 kg ha^{-1} comparado con aplicaciones realizadas posteriormente. Carmona *et al.* (2011) también encontraron que las aplicaciones en R3 resultaron en rendimientos estadísticamente superiores (3500 kg ha^{-1}) comparado a las realizadas en R5 (3350 kg ha^{-1}) para el control de EFC en ataques severos (52% de área foliar dañada). Sin embargo, Distéfano y Gadbán (2009a) en un trabajo realizado para identificar el momento de aplicación óptimo para controlar MOR en el cultivo de soja, observaron que ante una severidad de grado 2,5 (escala 1 a 6) la doble aplicación en R3 y R5 resultó en el rendimiento más alto de 4929 kg ha^{-1} , comparado con los rendimientos alcanzados por los tratamientos con única aplicación en R3 ó R5, 4454 y 3993 kg ha^{-1} , respectivamente. Por otro lado, Arias (2004) halló que la aplicación de fungicidas para el control de EFC en Soja en R3.4 (cuando el nivel de manchas foliares era aun escaso), R5.4 (con una severidad de 38,2% de área foliar dañada) o en combinaciones de ambos momentos no produjo diferencias significativas de rendimiento con respecto al testigo sin tratar. De los diferentes estudios pareciera que no existe un momento óptimo de

aplicación de fungicidas para el control de MOR en soja, más aún no siempre la aplicación de fungicidas entre R3 y R5 tiene un efecto significativo sobre el rendimiento, siendo importante considerar aspectos no sólo referidos a la enfermedad como incidencia, severidad, sino también del cultivo tales como nivel de rendimiento, área foliar remanente, ocurrencia de otro estrés, que modulan el nivel de respuesta del rendimiento. Los resultados encontrados resuelven de manera completa las inconsistencias mencionadas anteriormente respecto al momento fenológico adecuado para controlar ésta enfermedad en soja, aseverando que una única aplicación de estrobirulina+triazol en el estadio fenológico de inicio de formación de vainas (R3), sería suficiente para disminuir la incidencia de *C. sojina* a niveles que eviten mermas del rendimiento, con la consiguiente economía de insumos.

En el presente estudio, los rendimientos más elevados de DM3700 en los tratamientos donde se aplicó en R3 y cada 20 días apartir de R1 comparado con el testigo enfermo, podrían deberse a que al disminuir el parasitismo por la aplicación de la mezcla de fungicida (triazol + estrobilurina) en estadios reproductivos tempranos se preservó por más tiempo el área foliar verde generadora de fotoasimilados y aumentó la capacidad de captación de los recursos. De esta forma, como lo destacan Kantolic y Carmona (2005), el cultivo pudo haberse mantenido por más tiempo en niveles superiores al IAF crítico (índice de área foliar que maximiza la captura de luz en el cultivo) maximizando la tasa de crecimiento, lo que generaría, en ausencia de otros stresses, mayores rendimientos.

En los últimos años se han informado efectos directos de fungicidas, especialmente del grupo de las estrobilurinas, sobre el mantenimiento del área foliar verde (Bertelsen *et al.*, 2001; Cromey *et al.*, 2004 citado de Vilariño y Miralles, 2008). Los efectos fisiológicos de fungicidas de este grupo, incluyen entre otros, aumento en la fotosíntesis neta, disminución de la respiración y disminución de la producción de etileno en las hojas (Ghiglione *et al.*, 2007; Dorado Neto *et al.*, 2006 citado de Vilariño y Miralles, 2008). Aunque sólo se pudo hipotetizar porque en este estudio no se midieron dichos parámetros (IAF, fotosíntesis, respiración, producción de etileno), la pérdida de follaje y el aceleramiento a R7 (madurez

fisiológica) del testigo enfermo respecto al resto de las parcelas tratadas, que respetaron el ciclo normal de la variedad para llegar a madurez fisiológica, son indicadores que respaldan dicha hipótesis.

Cabe destacar que no se esperaban diferencias entre el tratamiento donde se aplicó en R3+R5 y aquellos donde se aplicó en R3 y cada 20 días a partir de R1, esto podría estar asociado a la elevada variabilidad entre unidades experimentales (coeficiente de variación 18%), razón por la cual en el futuro sería interesante repetir ensayos de este tipo pero con mayor número de repeticiones.

Considerando los componentes del rendimiento, tanto el NGm^2 como el PMAj del testigo enfermo DM3700 (1430 granos m^{-2} y 135,9 g, respectivamente), fueron significativamente menores comparado con el tratamiento donde se aplicó fungicida en R3 al mismo cultivar, exhibiendo éste último los valores más altos de ambas variables (2294 granos m^{-2} y 151,5 g, respectivamente) (Fig. 11 y 12) y por ende también de rendimiento (Fig. 10) como fue señalado anteriormente. En el testigo enfermo (sin aplicaciones) DM3700 el NGm^2 fue el componente más afectado ante aumentos de la severidad de MOR disminuyendo 38%, mientras que el PMAj también se redujo, pero en menor proporción (13%) respecto del tratamiento testigo sano. Existe una fuerte base experimental que muestra que el número de granos del cultivo está limitado por la actividad de la fuente de fotoasimilados durante la etapa crítica R1 – R5/R6, es decir que dicho componente está relacionado con la fotosíntesis del cultivo durante el período crítico (Kantolic *et al.*, 2003). En el testigo enfermo DM3700 la severidad de MOR fue la máxima registrada en el ensayo, pasando de 5,3 a 37,3% del área foliar verde dañada justo durante el período crítico para la determinación del número de granos, manifestándose en la fuerte caída de dicho componente.

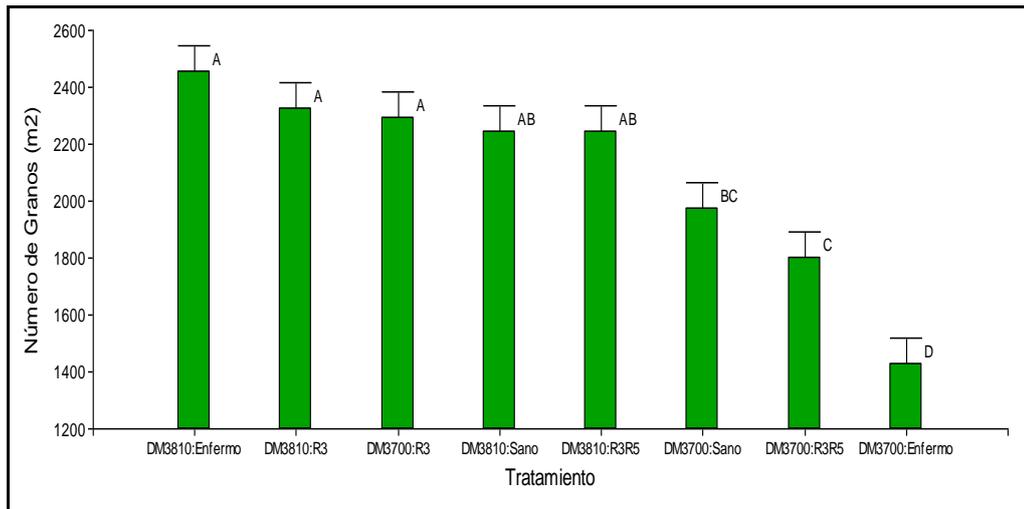


Fig. 11. Número de granos (m²) de la interacción cultivar (DM3700 y DM3810) × tratamiento (testigo sano, aplicación en R3, aplicaciones en R3 y R5, testigo enfermo). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Las barras verticales indican el desvío estándar del conjunto total de datos.

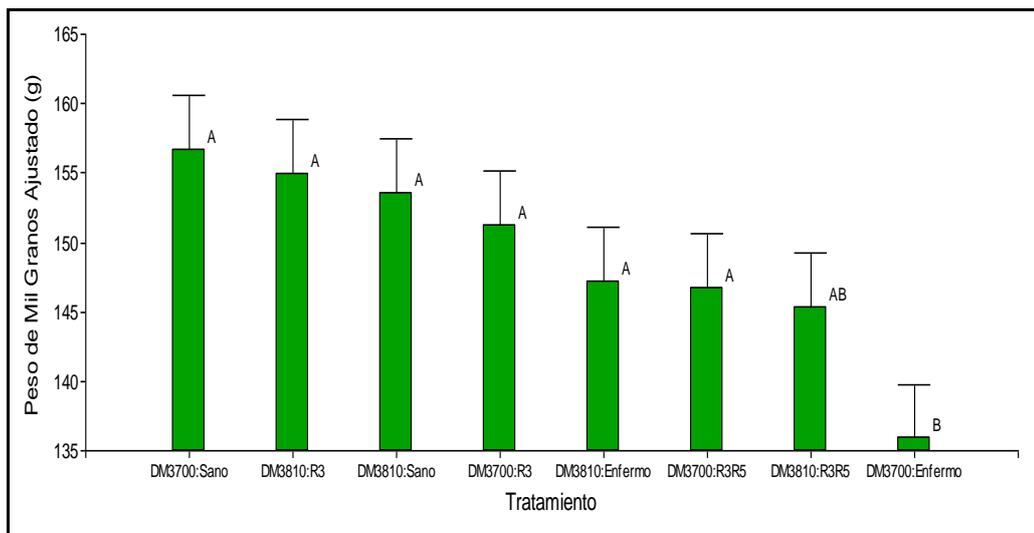
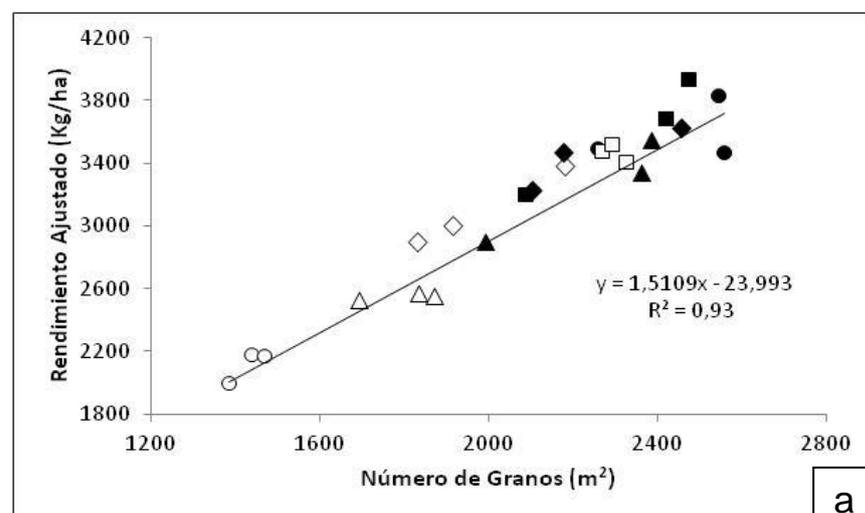


Fig. 12. Peso de mil granos ajustado (g) de la interacción cultivar (DM3700 y DM3810) × tratamiento (testigo sano, aplicación en R3, aplicaciones en R3 y R5, testigo enfermo). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Las barras verticales indican el desvío estándar del conjunto total de datos.

Existen trabajos que muestran diferentes respuestas de los componentes del rendimiento ante ataques de MOR. Canale *et al.* (2010) observaron una disminución del peso de mil granos del 18% entre el testigo enfermo y los tratamientos con fungicida foliar, mientras que no detectaron diferencias estadísticamente significativas para el número de

granos por m^2 . Distéfano y Gabdán (2009a), si bien encontraron reducciones de ambos componentes del rendimiento en el testigo enfermo comparado con los tratamientos con fungicidas, señalaron que el peso de mil granos disminuyó en mayor proporción que el número de granos por planta (47% y 28%, respectivamente). La bibliografía en general, es escasa y poco concluyente, algunos trabajos se limitan a analizar solo el rendimiento (Mian *et al.*, 1998; Distéfano y Gadban, 2009b); mientras que otros, incluyen además el peso de los granos pero no el número (Dashiell y Akem, 1991; Akem, 1995; Mwase y Kapooria, 2001) lo que limita la interpretación de los resultados observados. A pesar de que en el presente trabajo ambos componentes del rendimiento disminuyeron en el testigo enfermo DM3700, las reducciones en el NGm^2 fueron más pronunciadas que las del PMAj y por lo tanto, disminuciones en el NGm^2 parecerían ser el principal componente de la pérdida de rendimiento. Resultados de regresiones lineales apoyaron la anterior suposición, dado que mostraron que si bien el PMAj fue un predictor significativo para el rendimiento ($p = 0,0053$) (Fig. 13), el Cp de Mallows indicó que el NGm^2 fue 28 veces más importante que el PMAj. Esto coincide con lo observado por Kantolic *et al.* (2003) de que las variaciones en el número de granos en soja provocadas por distintos factores ambientales, en general están más estrechamente asociadas con cambios en el rendimiento ($R^2=0,82$) comparado con las variaciones en el peso de los granos, cuya relación con el rendimiento no es tan robusta ($R^2=0,39$).



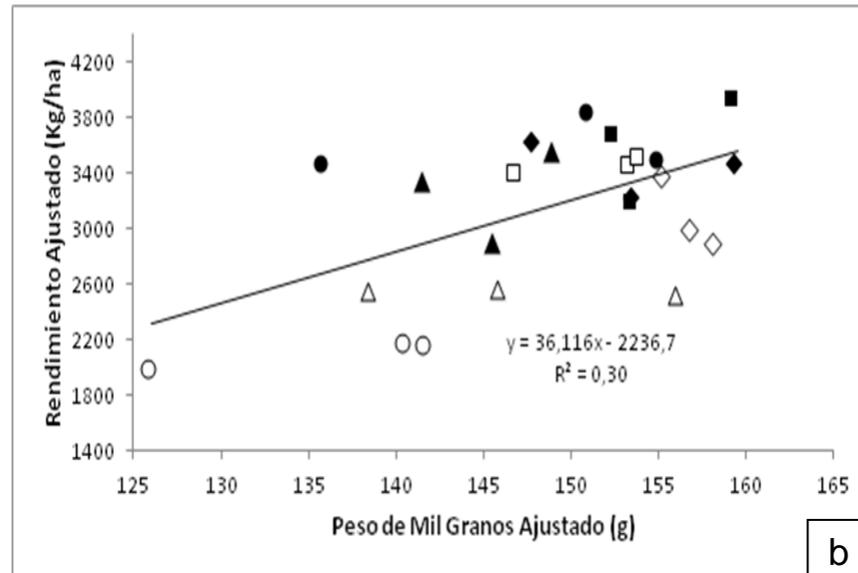


Fig. 13. Relaciones entre (a) el rendimiento y el número de granos y (b) el rendimiento y el peso de mil granos ajustado de 2 cultivares comerciales (DM3810= negro y DM3700= blanco) considerando los 4 tratamientos realizados (testigo sano= rombo, aplicación en R3= cuadrado, aplicaciones en R3 y R5= triángulo, testigo enfermo= círculo).

Vilariño y Miralles (2008) encontraron en soja con niveles de severidad de EFC muy bajos (menores al 2% en R6) incrementos de rendimiento atribuidos a estrobilurinas, también en cereales numerosos estudios observaron aumentos de rendimiento debido a la aplicación de estrobilurinas ó triazoles en ausencia de enfermedades foliares (Bryson *et al.*, 2000; Bayles y Hilton, 2000; Grossmann y Retzlaff, 1997; Grossmann *et al.*, 1999 citado de Swoboda y Pedersen, 2009). No obstante, en el presente trabajo los cuatro tratamientos que involucraron a DM3810 (que exhibieron ausencia de síntomas de MOR en las hojas) no presentaron diferencias estadísticamente significativas en lo referido al rendimiento y sus componentes (NGm² y PMAj) (Fig. 10, 11 y 12). Por lo tanto, estos resultados apoyan las observaciones de trabajos recientes conducidos en Iowa (USA) que proporcionaron evidencias de que la aplicación de fungicidas de los grupos triazoles y estrobilurinas no necesariamente producen incrementos en el rendimiento que luego se traducen en retornos económicamente consistentes, cuando las condiciones no son propicias para el desarrollo de enfermedades fúngicas foliares (Swoboda y Pedersen, 2009; Soto-Arias y Munkvold, 2011).

5.5. Efectos de Cultivar, Tratamiento y de la Interacción entre Cultivar y Tratamiento sobre la Calidad del Grano

A diferencia de lo señalado para el rendimiento y sus componentes, no hubo interacción cultivar \times tratamiento significativa para los componentes químicos del grano analizados, proteína y aceite ($p = 0,9982$ y $0,9010$, respectivamente) (Figs. 14 y 15). Sólo hubo diferencias estadísticas entre los cultivares ($p < 0,05$), exhibiendo DM3810 el valor más alto de aceite (23,2%) y el más bajo de proteína (39,5%) comparado con DM3700 que manifestó un comportamiento inverso, alcanzado valores de 22,6% y 40,3% para aceite y proteína, respectivamente. Se observó una relación negativa entre porcentajes de aceite y proteína en los granos para todos los tratamientos (Fig. 16). Aunque dicha correlación negativa entre ambas concentraciones ha sido ampliamente reportada en la literatura acerca de cultivos oleaginosos, más específicamente soja (Wilcox y Cavins, 1995; Wilcox y Shibles, 2001; Yin y Vyn, 2005), resulta importante destacar que no había sido observada antes para cultivos enfermos, atacados por una enfermedad necrotrofica de fin de ciclo como lo es MOR.

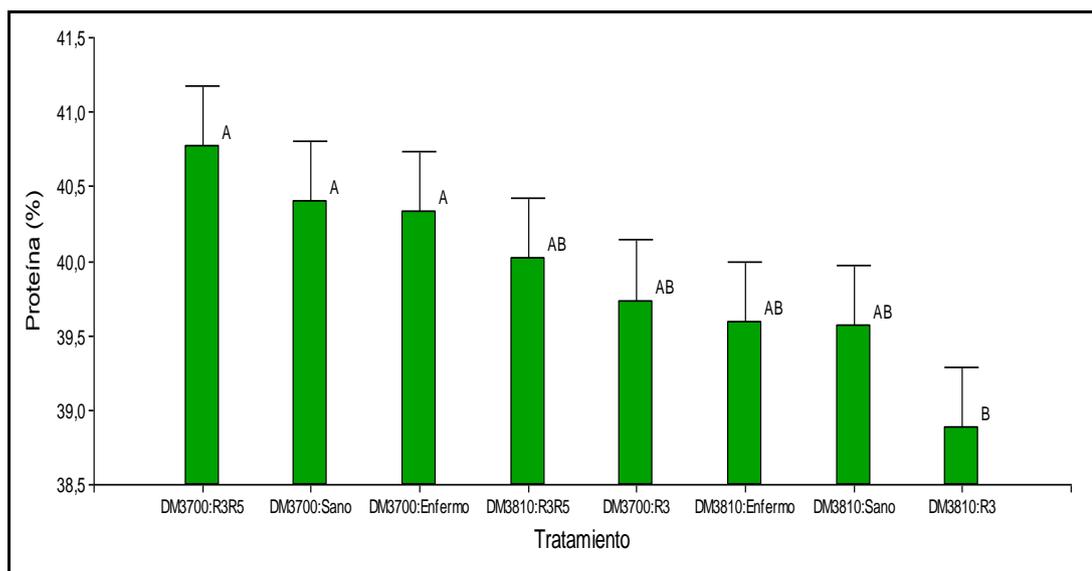


Fig. 14. Concentración de proteína (porcentaje de materia seca) de la interacción cultivar (DM3700 y DM3810) \times tratamiento (testigo sano, aplicación en R3, aplicaciones en R3 y R5, testigo enfermo). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Las barras verticales indican el desvío estándar del conjunto total de datos.

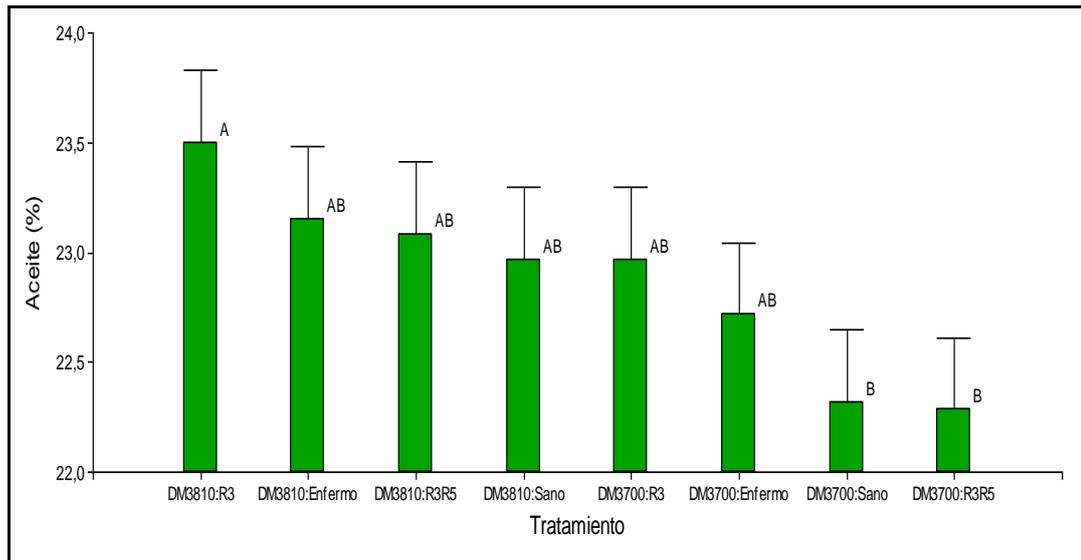


Fig. 15. Concentración de aceite (porcentaje de materia seca) de la interacción cultivar (DM3700 y DM3810) x tratamiento (testigo sano, aplicación en R3, aplicaciones en R3 y R5, testigo enfermo). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Las barras verticales indican el desvío estándar del conjunto total de datos.

Ambos componentes químicos fueron expresados en concentración, siendo esta una construcción matemática que se refiere al contenido de un componente particular respecto al peso total de la semilla (es decir, la suma de todos los componentes). Es por ello que, la concentración de proteína de la semilla depende no sólo del contenido de proteína (mg por semilla), sino también del contenido de aceite y de las fracciones residuales (principalmente paredes celulares, carbohidratos solubles y minerales). Por lo tanto, resulta lógico esperar que aumentos del porcentaje de aceite estén acompañados de disminuciones de la concentración de proteína y viceversa (Fig. 16).

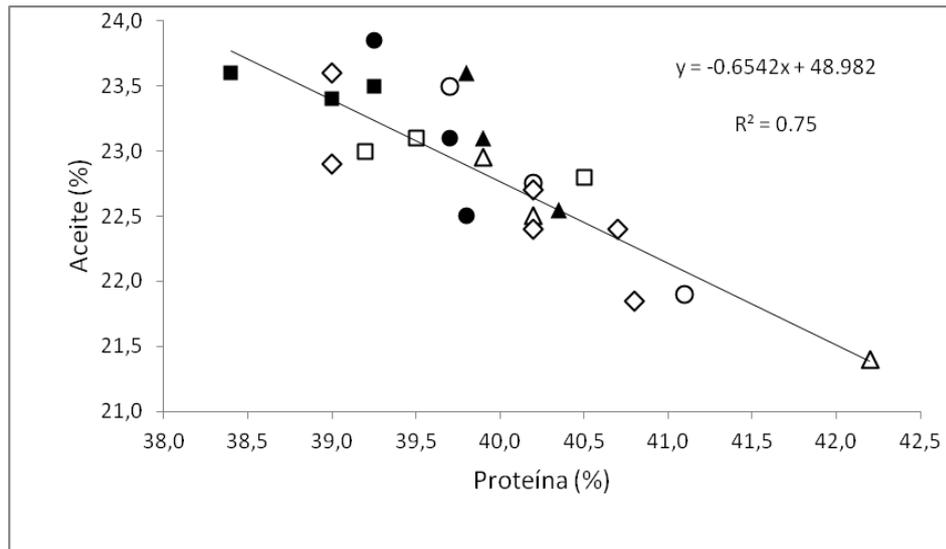


Fig. 16. Regresión entre la concentración de aceite (porcentaje de materia seca) y la concentración de proteína (porcentaje de materia seca) ($p < 0,0001$). El color blanco en la figura representa a DM3700 y el negro a DM3810. Las formas rombo, cuadrado, triángulo y círculo representan los tratamientos testigo sano, aplicación en R3, aplicaciones en R3 + R5 y testigo enfermo, respectivamente.

Es importante notar que para DM3810 las variaciones entre aceite y proteína no fueron generadas por la enfermedad (ya que la incidencia en este cultivar resistente fue nula) lo cual tal vez pueda deberse a las variaciones ambientales entre parcelas propias del diseño experimental utilizado. En el caso del cultivar susceptible DM3700 los puntos se dispersan bastante (Fig. 16) sin ningún ordenamiento aparente entre tratamientos, sugiriendo que las variaciones observadas entre ambos componentes químicos también podrían deberse a las mencionadas variaciones ambientales entre parcelas.

En la literatura ha sido documentada una correlación negativa entre rendimiento y la concentración de Pr (Wilcox y Guodong, 1997), aunque no en cultivos enfermos con enfermedades necrotroficas como MOR. En el presente estudio dicha relación, aunque significativa ($p = 0,0063$) fue débil ($R^2 = 0,29$) y nuevamente sin ningún ordenamiento aparente entre tratamientos (Fig. 17), lo cual limita la interpretación de los resultados observados. No obstante, es notable que ambos genotipos son variables en su contenido de proteína (rangos de 38,4-40,7% y 39,2-42,2%, para DM3810 Y DM3700, respectivamente) y que, mientras DM3810 es estable en rendimiento y variable en proteína, DM3700 es variable

en ambos atributos (Fig. 17).

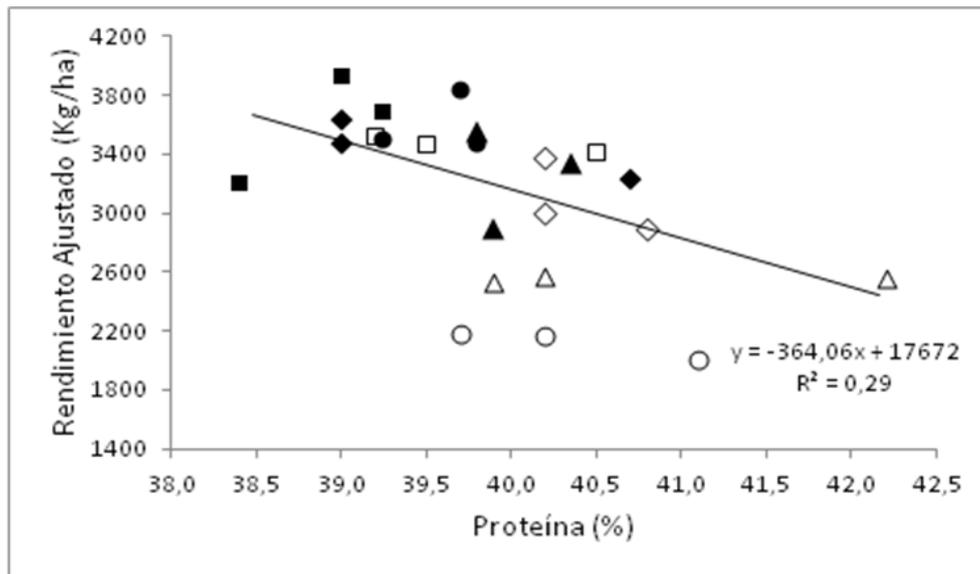


Fig. 17. Regresión entre el rendimiento ajustado (kg ha^{-1}) y la concentración de proteína (porcentaje de materia seca) ($p=0,0063$). El color blanco en la figura representa a DM3700 y el negro a DM3810. Las formas rombo, cuadrado, triángulo y círculo representan los tratamientos testigo sano, aplicación en R3, aplicaciones en R3 + R5 y testigo enfermo, respectivamente.

Al no hallarse diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos ni ser significativa la interacción cultivar \times tratamiento para proteína y aceite no pudo corroborarse que ataques causados por *C. sojina* causen disminución en la concentración de aceite del grano, tampoco se observó el aumento esperado de la concentración final de proteína producto de la caída del aceite, aunque la pendiente de la relación negativa entre aceite y proteína de la Fig. 16 de $-0,65$ podría dar indicios de ello.

A pesar de ser *C. sojina* un patógeno necrotrófico cuya estrategia consiste en destruir la capacidad fotosintética afectando, por lo tanto mucho más la acumulación de carbono que la de nitrógeno (Dimmock y Gooding, 2002), no se observaron reducciones de la concentración de aceite cuya síntesis por la semilla depende principalmente de la fijación actual de carbono durante el llenado de granos (Rotundo y Westgate, 1998). El aceite comienza a depositarse en el grano 15 a 20 días después de floración (Sale y Campbell, 1980), alcanzando la tasa máxima de acumulación en la fase R5.5, es decir en la mitad del

período del llenado de granos (alrededor de 35-37 días después de la floración) (Wilson, 2004). En nuestro estudio, 26 días después de floración (en R5) el porcentaje de área foliar dañada por MOR fue del 14,7%, mientras que el máximo valor de severidad fue observado a los 69 días después de floración (en R7) (en el tratamiento enfermo de DM3700). Por consiguiente, la falta de respuesta del aceite a la disminución del área foliar debido a MOR, tal vez pueda deberse al desfase entre el momento en el que la tasa de acumulación de dicho componente es máxima y el momento en que la severidad de MOR fue la más alta. Estos resultados indican que una severidad de 14,7% alrededor de la fase R5.5 coincidente con el momento de máxima síntesis de aceite no sería suficiente para causar la reducción del mencionado componente. Esto sugiere la posibilidad de que los componentes químicos del grano, como el aceite, sean atributos más conservadores, a diferencia de lo que ocurre con el rendimiento y el número de granos, cuyo comportamiento es variable en función de las condiciones ambientales.

Aunque fue posible cuantificar las diferencias en el rendimiento y sus componentes en genotipos contrastantes en susceptibilidad al daño ocasionado por *C. sojina* ante el ataque de dicho patógeno, lo mismo no se logró cuando se analizaron los componentes químicos, aceite y proteína. Sería necesario aumentar el número de años y considerar otros aspectos, además de los reconocidos índices que cuantifican el grado de avance de la enfermedad (incidencia y severidad), como por ejemplo el IAF, principalmente cuando este parámetro se encuentra por debajo de su valor crítico durante el período crítico para la definición del rendimiento; a la vez que sería interesante analizar cómo se afecta la relación fuente/destino en la planta. Estos aspectos ayudarían a esclarecer en que proporción se ven afectados los distintos compuestos químicos ante un ataque de MOR y comprender las bases ecofisiológicas que explican las variaciones en la composición del grano atribuidas a *C. sojina*.

6. CONCLUSIONES

Se encontró correlación significativa entre la severidad del ataque de MOR y el rendimiento alcanzado por el cultivo. Los valores más elevados de severidad (37,3% de manchas foliares) se correspondieron con los rendimientos más bajos (2117 kg ha⁻¹) en el cultivar más susceptible (DM3700). Mientras que, no hubo diferencias estadísticamente significativas en el rendimiento alcanzado por DM3810 entre los diferentes tratamientos aplicados, exhibiendo este cultivar los rendimientos más altos (3478 kg ha⁻¹ aproximadamente).

En el presente estudio ambos componentes del rendimiento disminuyeron en el testigo enfermo DM3700; sin embargo, las reducciones en el NGm² fueron más pronunciadas que las del PMAj y por lo tanto, disminuciones en el NGm² son el principal componente afectado por la pérdida de rendimiento.

No se observaron incrementos de rendimiento, NGm² y/o PMAj atribuidos a la mezcla estrobilurinas + triazoles en los tratamientos que involucraron a DM3810 ante ausencia de MOR. Estos resultados proporcionaron evidencias de que la aplicación de fungicidas de los grupos triazoles y estrobilurinas no necesariamente produce incrementos en el rendimiento cuando las condiciones no son propicias para el desarrollo de enfermedades fúngicas foliares.

El efecto cultivar fue el único estadísticamente significativo para proteína y aceite, alcanzando DM3810 el valor más alto de aceite (23,2%) y el más bajo de proteína (39,5%) comparado con DM3700 cuyo comportamiento fue inverso, alcanzado el valor más bajo de aceite (22,6%) y el más elevado de proteína 40,3%.

En resumen, los hallazgos detallados anteriormente, permitieron aceptar parcialmente la hipótesis que sostiene que: ***una única aplicación de triazol + estrobilurina, en el estadio fenológico de inicio de formación de vainas (R3), es suficiente para disminuir la incidencia de C. sojina a niveles que eviten mermas del rendimiento y deterioro de la calidad industrial del grano de soja.*** Esto únicamente se comprobó en el caso del rendimiento y sus componentes, no así en lo referido a los componentes químicos abordados en este estudio, los cuales no disminuyeron ante ataques de MOR. De esta manera, los resultados obtenidos resuelven la inconsistencia de la bibliografía referida al momento fenológico más oportuno de control de la enfermedad para evitar mermas del rendimiento.

Con respecto a la hipótesis que establece que: ***el efecto de un ataque de MOR sobre el rinde y la calidad es diferente dependiendo del grado de susceptibilidad del genotipo a la enfermedad,*** la misma sólo fue aceptada parcialmente. Dado que sólo se observaron diferencias entre ambos genotipos referidas al rendimiento y sus componentes ante el ataque de MOR.

Y finalmente, las evidencias de este estudio no permitieron aceptar la hipótesis referida a que ***la concentración de aceite del grano de soja disminuye ante la incidencia de C. sojina durante la etapa reproductiva del cultivo.*** Lo que tal vez pueda haberse debido a que la severidad máxima alcanzada por MOR en el genotipo más susceptible (37,3% del área foliar dañada en el tratamiento enfermo de DM3700 en R7) no fue suficiente como para causar disminución de la concentración del aceite. Sugiriendo la posibilidad de que el aceite sea un atributo más conservador comparado con el rendimiento y el número de granos.

Las contribuciones más destacadas de esta tesis fueron:

i) determinar que la caída del rendimiento debido a MOR principalmente se debió a la disminución del NGm². La mayor parte de la bibliografía se limita a analizar solo el rendimiento, mientras que otros, incluyen además el peso de los granos pero no el número lo que limita la interpretación de los resultados observados,

ii) una única aplicación de estrobilurina+triazol en el estadio fenológico de inicio de formación de vainas (R3), sería suficiente para disminuir la incidencia de *C. sojina* a niveles que eviten mermas del rendimiento, con la consiguiente economía de insumos,

iii) la elección de genotipos poco susceptibles a MOR (como DM3810) es una medida de manejo eficaz para controlar MOR, principalmente si se prevé que las condiciones climáticas durante el ciclo del cultivo podrían no favorecer el progreso acelerado de la enfermedad (según el pronóstico anticipado del clima para la campaña), sin tener que recurrir a aplicaciones de productos químicos.

iv) determinar que la enfermedad “mancha ojo de rana” no afecta la concentración de aceite y proteína, si la severidad es $\leq 37,3\%$. Siendo a nuestro entender el primer antecedente que incorpora la evaluación de los parámetros de calidad de los granos de soja cuando es afectado por una enfermedad de naturaleza necrotrófica como MOR. Resulta interesante destacar que al no haber inoculado el ensayo con *C. Sojina*, los niveles de severidad medidos representaron lo que ocurre a campo en la región de estudio confirmando de esta forma extrapolabilidad a los resultados obtenidos.

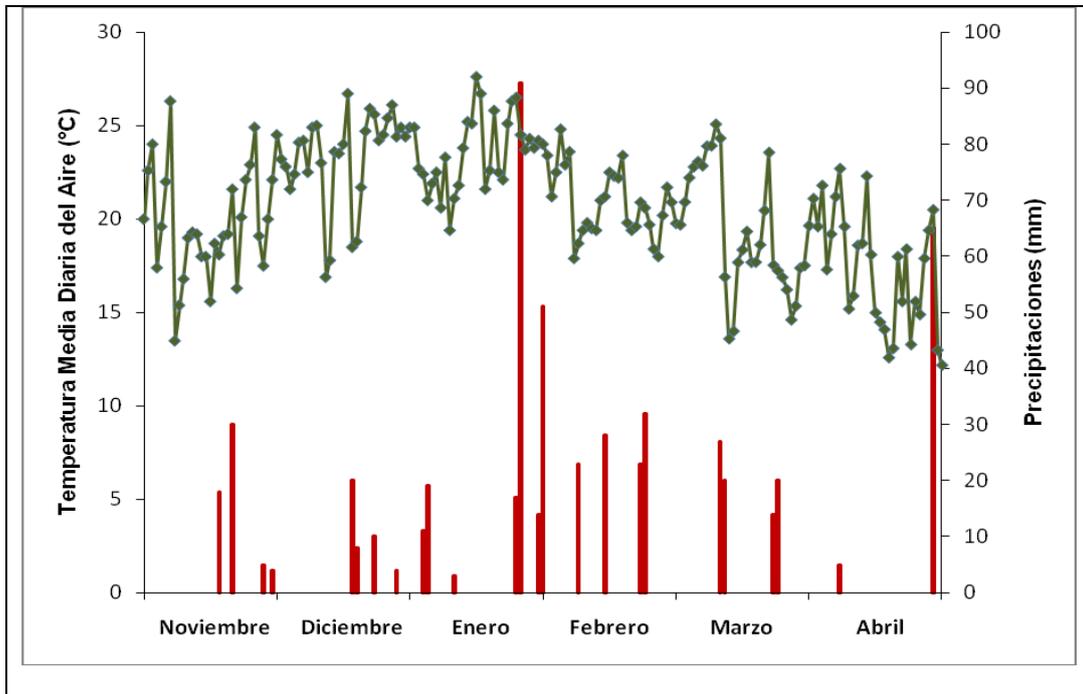
Este trabajo es el primer paso en el camino de una investigación más amplia para comprender los mecanismos a través de los cuales la enfermedad mancha ojo de rana (*C. sojina*) afecta el rendimiento y calidad industrial del grano de soja en genotipos contrastantes en susceptibilidad a MOR, analizando la respuesta a distintos momentos de aplicación durante el ciclo reproductivo del cultivo.

7. ANEXOS

7.1. ANEXO 1

CARACTERIZACIÓN TÉRMICA Y PLUVIOMÉTRICA DURANTE EL CICLO DEL CULTIVO

Fig. 18. Caracterización térmica y pluviométrica durante el ciclo del cultivo de soja del ensayo realizado a campo (campaña 2010/2011).



8. BIBLIOGRAFÍA

- American Association of Cereal Chemists (AACC) (2000) Approved methods of the AACC. 10th ed. Am. Assoc. Cereal Chemists, St. Paul, MN.
- Akem CN (1995) The effect of timing of fungicide applications on control of frog-eye leaf spot and grain yield of soybeans. *European journal of plant pathology* 101, 183-187.
- Akem CN, Dashiell KE (1994) Effect of planting date on severity of frog-eye leaf spot and grain yield of soybeans. *Crop Protection* 13, 607-610.
- Arias N, Ferdman L, De Battista J (2004) Uso de fungicidas para el control de enfermedades de fin de ciclo en soja. Serie producción vegetal INTA EEA Concepción del Uruguay. Boletín técnico 45, 71-76.
- Arias N (2010a) Experiencias en el control de enfermedades en el cultivo de soja. Serie Producción Vegetal. INTA EEA Concepción del Uruguay. Boletín Técnico 51.
- Arias N (2010b) Comportamiento de cultivares de soja a mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*), este de E. Ríos. Campaña 2009/2010. Serie Producción Vegetal. INTA EEA Concepción del Uruguay. Boletín Técnico 51.
- Bayles RA, Hilton GJ (2000) Variety as a factor in the response of cereals to strobilurins. p. 731–738. In *The Proc. of the BCPC Conf., Brighton, UK. 13–16 Nov. 2000.* British Crop Production Council, Hampshire, UK.
- Bertelsen N JR, de Neergaard E, Smedegaard Petersen V (2001) Fungicidal effects of azoxystrobin and epoxiconazole on phyllosphere fungi, senescence and yield of winter. *Plant Pathology* 50, 190-205.
- Borrás L, Slafer GA, Otegui ME (2004) Seed dry weight response to source–sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. *Field Crops Res.* 86, 131–146.
- Bryson RJ, Leandro L, Jones DR (2000) The physiological effects of kresoxim-methyl on wheat leaf greenness and the implications for crop yield. p. 739–749. In *The Proc. of the BCPC Conf., Brighton, UK. 13–16 Nov. 2000.* British Crop Production Council, Hampshire, UK.
- Canale A, Salafia A, Blanco P, Acotto R (2010) Evaluación de rendimiento y calidad de grano en soja tratada con diferentes fungicidas foliares para el control de mancha ojo de rana en el sur de Córdoba. Agencia de Extensión Rural INTA Laboulaye.
- Carmona MA (2005) Roya asiática de la soja y enfermedades de fin de ciclo relación con la ecofisiología y el control químico. Información técnica cultivos de verano. Campaña 2005. INTA EEA Rafaela. Publicación miscelánea 104.
- Carmona MA, Scandiani MM, Luque A (2009) Severe outbreaks of Soybean Frog-eye Leaf Spot in the Pampean Region, Argentina. *Plant Disease* 93, 966.
- Carmona MA, Formento AN, Scandiani MM (2010) Manual mancha ojo de rana. Ed. Horizonte A. Buenos Aires, Argentina. 48p.

- Carmona MA, Gally M, Sautua F, Abello A, Lopez P (2011) Uso de mezclas de azoxistrobina y triazoles para el control de las enfermedades de fin de ciclo en el cultivo de soja. *Summa Phytopathologica* 37, 134-139.
- Carmona MA, Scandiani MM (2009) Sorpresivas epidemias de la mancha ojo de rana en lotes de soja durante 2009. <http://www.aapresid.org.ar> 02/03/2009.
- Carrera C, Martínez MJ, Dardanelli J, Balzarini M (2009) Water deficit effect on the relationship between temperature during the seed filling period and soybean seed oil and protein concentrations. *Crop Science* 49, 990-998.
- Carrera C, Martínez M J, Dardanelli J, Balzarini M (2011) Environmental Variation and Correlation of Seed Components in Non-transgenic Soybeans: Protein, Oil, Unsaturated Fatty Acids, Tocopherols and Isoflavones. *Crop Science* 51, 800-809.
- Cámara de sanidad agropecuaria y fertilizantes (CASAFE). Guía de productos fitosanitarios (2011) 15^o edición. Buenos Aires. 1976 pp.
- Cámara de la Industria Aceitera de la República Argentina (2011)- Centro de Exportadores de Cereales. (CIARA-CEC). Disponible en www.ciaracec.com.ar/tablas/ciara060.xls
- Couretot LA, Mousegne FJ, Ferraris GN (2009) Control de mancha marrón de la hoja y mancha ojo de rana en soja bajo stress hídrico. *Agromercado. Cuadernillo temático. Fungicidas*. p. 5-7.
- Cruz CD, Dorrance AE (2009) Characterization and survival of *Cercospora sojina* in Ohio. Online. Plant Health 2009 Plant Management Network.
- Dashiell KE, Akem CN (1991) Yield losses in soybeans from frog-eye leaf spot caused by *Cercospora sojina*. *Crop Protection* 10, 465–468.
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Díaz CG, Ploper LD, Galvez MR, Gonzalez V, Zamorano MA, Jaldo HE, Lopez C, Ramallo JC (2005) Effect of late season diseases on the growth of different soybean genotypes in relation to planting date. *Agriscientia* 22, 1-7.
- Dimmock JPR, Gooding EMJ (2002) The influence of foliar diseases, and their control by fungicides, on the protein concentration in wheat grain: a review. *Journal of Agricultural Science* 138, 349–366.
- Distéfano SG (2008) Impacto en rendimiento de “mancha ojo de rana” (*Cercospora sojina*) y susceptibilidad varietal. http://www.baydir.com.ar/news/enfoco/en_foco_1/index.html
- Distéfano SG, Gadbán LC, Lenzi L (2009) Estimación de pérdidas de rendimiento causadas por la “mancha ojo de rana” en diferentes cultivares de soja. XIII Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Río Hondo, Santiago del Estero.
- Distéfano SG, Lenzi LG, Gadban LC, Fuentes FH (2010) Evaluación de cultivares de soja frente a “mancha ojo de rana” (*Cercospora sojina* K. Hara). <http://inta.gob.ar/documentos/evaluacion-de-cultivares-de-soja-frente-a-201cmancha-ojo-de-rana201d-cercospora-sojina-hara-2010/>

- Distéfano SG, Gadbán LC (2009a) Efecto de la aplicación de fungicidas foliares de distintos grupos químicos en diferentes estadios fenológicos del cultivo de soja sobre la intensidad de mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*) y los componentes del rendimiento. <http://www.inta.gov.ar/mjuarez/info/documentos/soja/fungimor10.pdf>
- Distéfano SG, Gadbán LC (2009b) Estimación de pérdidas de rendimiento causada por la mancha ojo de rana en diferentes cultivares de soja. Resúmenes XIII Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Río Hondo, Santiago del Estero.
- Distéfano SG, Giorda LM (eds.) (1997) Enfermedades de la soja en Argentina. INTA Centro Regional Córdoba. 72 pp.
- Fehr WR, Caviness CE (1977) Stages of soybean development. Spec. Rep. 80, Iowa State University, Ames, Iowa.
- Fuentes F, Distéfano SG, Gadbán LC (2010) Evaluación de cultivares de la RECSO frente a "Mancha Ojo de Rana" (*Cercospora sojina*) - Campaña 2009/2010. <http://anterior.inta.gov.ar/f/?url=http://anterior.inta.gov.ar/mjuarez/info/documentos/soja/recso10res.htm>
- Ghiglione HO, Gries M, Paglione R, Etcheverry M, Ribaudó CM, Feuring V, Curá JA (2007) Efectos bioquímicos del fungicida Pyraclostrobin en soja. En Actas "Workshop Internacional: Ecofisiología aplicada al estudio de la determinación del rendimiento y la calidad de los cultivos de granos". 6 y 7 de septiembre. Mar del Plata, Argentina. Pp. 132-133.
- Grossmann K, Retzlaff G (1997) Bioregulatory effects of the fungicidal strobilurin kresoxim-methyl in wheat (*Triticum aestivum*). Pesticide Science 50, 11–20.
- Giorda LM, Justh GR (1983) Problemas de diagnóstico relacionados con la diversificación sintomatológica en soja en la zona central de Córdoba. VIII Reunión técnica de la soja. Tucumán, Argentina. Septiembre de 1983.
- Gonzalez Baca G (2011) Epidemiología de enfermedades de fin de ciclo y roya asiática en diferentes variedades y fechas de siembra de soja en Tamaulipas. Tesis Magister. Colegio de Postgraduados Campus Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 130 pp
- HILBERT JA, SBARRA R, LÓPEZ AMORÓS M (2012) Producción de biodiesel a partir de aceite de soja. Contexto y evolución reciente. Ed. INTA. Buenos Aires, Argentina. 148p.
- Howell HW, Caldwell BE (1978) Genetic and other biological characteristics. Chapter 2. In Soybeans: Chemistry & Technology. Volume 1- Proteins. Smith, A.K., Eds.; AVI Publishing Company, INC.: Westport, Connecticut, 1978; pp 27-60.
- Jarvis A, Ramirez J, Anderson B, Leibing C, Aggarwal P (2010) Scenarios of Climate Change Within the Context of Agriculture p. 9-37. In Reynolds MP (ed), Climate change and crop production, CAB International, Wallingford
- Kantolic AG, Giménez PI, de la Fuente EB (2003) En: Producción de granos. Bases funcionales para su manejo. Satorre E. H., Benech Arnold R.L., Slafer G.A., de la Fuente E. B., Miralles D.J., Otegui M.E y Savin R. (eds.). Editorial Facultad de Agronomía, Buenos Aires, Argentina, pp. 167-186.

- Kantolic AG, de la Fuente EB, Giménez PI (2006) Soja. En: Cultivos Industriales. De la Fuente EB, Gil A, Giménez PI, Kantolic AG, López Pereira M, Ploschuk E, Sorlino DM, Vilariño MP, Wassner DF, Windauer LB (eds.). Editorial Facultad de Agronomía, Buenos Aires, Argentina, pp. 95-142.
- Kantolic AG, Carmona MA (2005) Bases ecofisiológicas de la generación de rendimiento: relación con el efecto de las enfermedades foliares y el uso de fungicidas en el cultivo de soja. En: Manual para ao manejo das doencas da soja Ed. Universidade de Passo Fundo, Brasil.
- Legrève A, Duveiller E (2010) Preventing Potential Disease and Pest Epidemics Under a Changing Climate p. 50-70. In Reynolds MP (ed), Climate change and crop production, CAB International, Wallingford.
- Liu KS (1997) Soybeans: Chemistry, Technology and Utilization. Liu K. S., (ed.). Chapman & Hall International Thomson Publishing, New York, USA, 532 pp.
- Mwase WF, Kapooria RG (2001) Incidence and severity of frog-eye leaf spot and associated yield losses in soybeans in agroecological zone II of Zambia. *Mycopathologia* 149, 73–78.
- McRoberts N, Hughes G, Madden LV (2003) The theoretical basis and practical application of relationships between different disease intensity measurements in plants. *Annals of Applied Biology* 142, 191-211.
- Mian MAR, Boerma HR, Phillips DV, Kenty MM, Shannon G, Shipe ER, Soffes Blount AR, Weaver DB (1998) Performance of frog-eye leaf spot resistant and susceptible near isolines of soybean. *Plant disease* 82, 1017–1021.
- Mian MA, Missaoui AM, Walker DR, Phillips DV, Boerma HR (2008) Frog-eye leaf spot of soybean: A review and proposed race designations for isolates of *Cercospora sojina* Hara. *Crop Science* 48, 14-24.
- Munkvold GP (2009) Seed pathology progress in academia and industry. *Annu. Rev. Phytopathol* 47, 285-311.
- Mullen R (2003) Soybean growth and development. Iowa State University (ISU). Department of Agronomy. Available at <http://www.agron.iastate.edu/soybean/soygandd.html>.
- Mwase WF, Kapooria RG (2001) Incidence and severity of frog-eye leaf spot and associated yield losses in soybeans in agroecological zone II of Zambia. *Mycopathologia* 149, 73–78.
- Phillips DV (1999) Frog-eye leaf spot. p. 20–21. In G.L. Hartman, J.B. Sinclair, and J.C. Rupe (ed.) *Compendium of soybean diseases*. 4th ed. American Phytopathological Soc., St. Paul, MN.
- R Development Core Team (2010) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Rotundo JL, Westgate ME (2008) Meta-analysis of environmental effects on soybean seed composition. *Field Crops Res* 110, 147-156.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la República Argentina (SAGPyA) (2011) Estimaciones Agrícolas. Publicado en internet, disponible en:

http://www.siaa.gov.ar/estimaciones_agricolas/02-mensual/ archivo/110000_2011/110616_Informe%20Mensual%20Junio%202011.pdf

- Sale PWG, Campbell LC (1980) Changes in physical characters and composition of Soybean seed during crop development. *Field Crops Research* 3,147-155.
- Soto-Arias JP, Munkvold GP (2011) Impacts of foliar fungicides on infection of soybean by *Phomopsis spp.* in Iowa, USA. *Crop Protection* 30, 577–580
- Swoboda C, Pedersen P (2009) Effect of fungicide on soybean growth and yield. *Agronomy Journal* 101, 352–356.
- United States Department of Agriculture (USDA) (2011) World Agricultural Supply and Demand Estimación. WASDE-445. ISSN: 1554-9089. 40 pp. Publicado en internet, disponible en <http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf>
- Urbaniak, GC, Plous S (2011) Research Randomizer (Version 3.0).Computer software. Retrieved on April 22, 2011, from <http://www.randomizer.org/>
- Wiebold B (2002) Growing degree days and corn maturity. In: *Corn Facts*. Plant Sci. Ext. Services, Univ. of Missouri, USA.
- Vilariño M del P, Miralles DJ (2006) Respuestas Fisiologicas a la aplicación de Fungicidas (Triazoles y Estrobilurinas) en Soja, sobre la generación de biomasa y el rendimiento. Resúmenes Expandidos del 3er. Congreso de Soja del Mersosur. Rosario 27-30 de junio de 2006. pp 388-391.
- Vilariño M del P, Miralles DJ (2008) Incrementos en la duración del área foliar en soja con la aplicación de Pyraclostrobin más Epoxiconazole en llenado de granos. Impacto sobre el rendimiento y sus componentes. Departamento de producción vegetal facultad de agronomía. Universidad de Buenos Aires.
http://www.agro.basf.com.ar/images/todos_topciencia2008.pdf
- Wilcox JR, Cavins JF (1995) Backcrossing high seed protein to a soybean cultivar. *Crop Science* 35, 1036-1041.
- Wilcox JR, Guodong Z (1997) Relationships between seed yield and seed protein in determinate and indeterminate soybean populations. *Crop Science* 37, 361-364.
- Wilcox JR, Shibles RM (2001) Interrelationships among seed quality attributes in soybean. *Crop Science* 41, 11-14.
- Wilson R (2004) Seed composition. En: *Soybeans: Improvement, production and uses*. Stewart B. A. and Nielsen D. R., (eds.), 3rd ed. Agronomy Monograph 16. ASSA, CSSA, and SSSA, Madison, WI, pp. 621-677.
- Yang W, Weaver DB (2001) Resistance to Frogeye Leaf Spot in Maturity Groups VI and VII of Soybean Germplasm. *Crop Science* 41, 549-552
- Yin X, Vyn TJ (2005) Relationships of isoflavone, oil, and protein in seed with yield of soybean. *Agronomy Journal* 97, 1314-1321.