Agronomía Mesoamericana

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Revisión bibliográfica
Volumen 33(3): Artículo 48494, 2022
e-ISSN 2215-3608, doi:10.15517/am.v33i3.48494

Tizón Foliar y la Mancha Púrpura de la semilla causados por *Cercospora kikuchii* en soja (*Glycine max* L. Merr.)[1]

Leaf Blight and Purple Seed Stain caused by *Cercospora kikuchii* in soybean (*Glycine max* L. Merr.)

M. Lavilla[2], A. Ivancovich[3], A. Díaz-Paleo[2,3]

[1] Recepción: 30 de septiembre, 2021. Aceptación: 9 de mayo, 2022. Este trabajo formó parte de la tesis doctoral del primer autor, realizada y financiada por la Universidad Nacional del Noroeste de la provincia de Buenos Aires (UNNOBA).
[2] Universidad Nacional del Noroeste de la provincia de Buenos Aires, Monteagudo 2772 (2700), Pergamino, Buenos Aires, Argentina. malavilla@comunidad.unnoba.edu.ar (autor para la correspondencia; https://orcid.org/0000-0002-7282-4696), ajivancovich@comunidad.unnoba.edu.ar (https://orcid.org/0000-0002-4195-2986).
[3] Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Ruta 32 km 4,5 (2700), Pergamino, Buenos Aires, Argentina. diazpaleo.antonio@inta.gob.ar (https://orcid.org/0000-0003-4252-5123).

Resumen

Introducción. El Tizón Foliar y la Mancha Púrpura de la Semilla son enfermedades causadas por *Cercospora kikuchii* que afectan a la soja (*Glycine max* L. Merr.) en el mundo y cuyos agentes etiológicos son hongos clasificados en distintas especies con cierta proximidad. **Objetivo.** Proporcionar un panorama sobre el patosistema del Tizón Foliar y la Mancha Púrpura de la Semilla causadas por *Cercospora kikuchii*, que afectan el cultivo de soja. **Desarrollo.** El grado de severidad y/o incidencia de ambas enfermedades varía tanto en Argentina como en el resto del mundo. Estudios recientes demostraron que hay gran variabilidad tanto morfológica como molecular entre los aislamientos de *C. kikuchii* obtenidos de pecíolo y semilla en las regiones norte, pampa norte y pampa sur recolectados en los años 2015 y 2016. El genoma a nivel de cromosoma de *C. kikuchii* se encuentra disponible. El ensamblaje del genoma de 9 contigs es de 34,44 Mb y el N50 es de 4,19 Mb. Sobre la base de la predicción de genes ab initio, se identificaron varios genes candidatos relacionados con la patogenicidad, incluidos 242 genes para efectores putativos, 55 grupos de genes de metabolitos secundarios y 399 genes de enzimas activas en carbohidratos. **Conclusión.** El Tizón Foliar y la Mancha Púrpura de la Semilla son enfermedades endémicas en la Argentina. El patógeno causal de ambas enfermedades presenta una gran variabilidad genética y molecular en la Argentina.

Palabras clave: patogénesis, epifitiología, análisis morfológico, análisis molecular.

Abstract

Introduction. Cercospora Leaf blight and Purple Seed Stain are diseases caused by *Cercospora kikuchii* that affect soybean (*Glycine max* L. Merr.) worldwide and whose etiological agents are fungi classified in different species certain proximity. **Objective.** To provide an overview of the pathosystem of Cercospora Leaf blight and Purple Seed Stain caused by *Cercospora kikuchii* affecting soybean. **Development.** The degree of severity and/or incidence of both

Agronomía Mesoamericana es desarrollada en la Universidad de Costa Rica bajo una licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional. Para más información escriba a pccmca@ucr.ac.cr o pccmca@gmail.com

diseases varies in Argentina as well as in the rest of the world. Recent studies showed that there is great variability both morphologically and molecularly among *C. kikuchii* isolates obtained from petiole and seed in the northern, northern pampas, and southern pampas regions collected in the years 2015 and 2016. The chromosome-level genome of *C. kikuchii* is available. The genome assembly of 9 contigs is 34.44 Mb and the N50 is 4.19 Mb. Based on ab initio gene prediction, several pathogenicity-related candidate genes were identified, including 242 genes for putative effectors, 55 secondary metabolite gene clusters, and 399 carbohydrate-active enzyme genes. **Conclusion.** Cercospora Leaf Blight and Purple Seed Stain are endemic diseases in Argentina. The causal pathogen of both diseases shows great genetic and molecular variability in Argentina.

Keywords: pathogenesis, epiphytiology, morphological analysis, molecular analysis.

Introducción

El cultivo de soja (*Glycine max* L. Merr.) en Argentina se expandió desde comienzos de la década de los 80, hasta convertirse en la actualidad en uno de los principales exportadores mundiales de aceite y harina de soja (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2018). Del 70 % de las exportaciones de la Argentina el mercado sojero participa en un 50 % de las mismas.

Durante el ciclo 2018-2019 la superficie sembrada con soja fue de veinte millones de hectáreas, con una producción de 56 millones de toneladas (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2019).

Entre los factores que afectan la producción de soja en el país, se mencionan las enfermedades fúngicas, favorecidas por el monocultivo y el uso de labranzas conservacionistas. En este sistema de manejo del cultivo, se propician las enfermedades causadas por agentes fúngicos que sobreviven en rastrojos en el suelo (Distefano & Gadbán, 2009; Ivancovich, 2011; Ivancovich et al., 2002).

Entre las enfermedades importantes de soja en la zona núcleo de Argentina, se destacan las llamadas de fin de ciclo (EFC), entre las cuales predominan la mancha marrón, causada por *Septoria glycines* Hemmi, la mancha ojo de rana, causada por *Cercospora sojina* Hara y el Tizón Foliar por Cercospora (TF), causado por *Cercospora kikuchii* (Ivancovich, 2011; Matsumoto & Tomoyasu, 1925).

Las EFC pueden reducir el rendimiento en soja entre un 8 % a un 10 % con un máximo del 30 % (Carmona et al., 2004). En el sur de los Estados Unidos, Egli (2008) encontró pérdidas significativas en el rendimiento de soja por el TF. En tanto en Argentina, los daños ocasionados redujeron el rendimiento en un 11 % en aquellos tratamientos que superaron el 50 % de incidencia y el 25 % de severidad para el TF, cuando no se les aplicó el fungicida foliar (Lavilla & Ivancovich, 2021)

El TF y la Mancha Púrpura de la Semilla (MPS) fueron reportados por primera vez en 1921 en Corea y Japón (Suzuki, 1921), en Argentina comenzó a relevarse en el cultivo de soja a partir de la década del 90 (Botta & Ivancovich, 1996).

El TF y la MPS son enfermedades que en el mundo afectan a la soja y cuyos agentes etiológicos son hongos clasificados en distintas especies más o menos próximas. En Estados Unidos, se han reportado otros agentes causales del TF como la *Cercospora* cf. *flagellaris* y la *Cercospora* cf. *sigesbeckiae* (Albu et al., 2014; 2016). En Argentina, mediante estudios moleculares y análisis filogenéticos, se ha confirmado la presencia de *Cercospora* cf. *sigesbeckiae* en el país (Soares et al., 2015). Estos estudios fueron a nivel de patógeno y no se ha comprobado su relación con el hospedante soja (*Glycine max*), mediante los postulados de Kock. Por lo tanto, la información provista por Soares et al. (2015) es parcial. Estudios posteriores en el TF y en la MPS realizados en la Argentina, al combinar información morfológica, molecular e inoculaciones en condiciones controladas del patógeno sobre el hospedante soja, confirmaron que ambas enfermedades eran causadas por *C. kikuchii* (Lavilla, 2021).

El grado de severidad y/o incidencia del TF y de la MPS varía tanto en Argentina como en el resto del mundo, las pérdidas de rendimiento a nivel global oscilan en un 2,5 %, pero en sur américa (Brasil, Uruguay y Argentina) las pérdidas pueden ser cercanas al 5 % (Savary et al., 2019). Las variaciones climáticas de Argentina indican que podría haber regiones expuestas a ataques muy severos que derivarían en el desarrollo de una epifitia, lo que afectaría la producción nacional de soja. Estudios en donde se relacionaron variables bioclimáticas con la severidad del TF y la incidencia de la MPS, demostraron que en el norte de la Argentina existen más probabilidades de una epifitia causada por alguna de estas enfermedades, debido a las temperaturas (25 °C y 30 °C), las precipitaciones en los meses de enero, febrero y marzo, y la radiación (Lavilla, 2021).

La taxonomía del género *Cercospora* es compleja, debido a la dificultad para encontrar caracteres morfo-fisiológicos que permitan separar a las especies. Diversos autores estudiaron al hongo y observaron una amplia diversidad genética de la especie *C. kikuchii*, a través de marcadores moleculares (Albu et al., 2014; 2016; Groenewald et al., 2013; Lavilla, 2021; Sautua et al., 2019; Soares et al., 2015). Desde hace pocos años, se encuentran disponibles metodologías de caracterización molecular que permiten no solo profundizar en la clasificación del hongo, sino también comparar con los resultados de otras investigaciones (Groenewald et al., 2013; Lavilla, 2021; Soares et al., 2015).

La caracterización morfológica y molecular de *C. kikuchii*, permite un mayor conocimiento del patógeno y de la enfermedad que facilitaría su manejo agronómico, con los consiguientes beneficios económicos para el país.

El objetivo de este trabajo es proporcionar un panorama sobre el patosistema del Tizón Foliar y la Mancha Púrpura de la Semilla causadas por *Cercospora kikuchii* que afectan el cultivo de soja.

Taxonomía

La última clasificación taxonómica del patógeno *C. kikuchii* causante del TF y la MPS se describe a continuación:

Super Reino: Eucariota
- Reino: Fungi
  - Sub-reino: *Dikarya*
    - Phylum: *Ascomycota*
      - Sub- phylum: *Pezizomycotina*
        - Clase: *Dothideomycetes*
          - Sub-clase: *Dothideomycetidae*
            - Orden: *Mycosphaerellales*
              - Familia: *Mycosphaerellaceae*
                - Género:
                - Fase sexual: *Micospharella*
                - Fase asexual: *Cercospora*
                - Especie: *C. kikuchii*

(Goodwin et al., 2001; Schoch et al., 2020).

Síntomas de la mancha púrpura de la semilla

La MPS produce diversos tipos de síntomas en soja, tales como coloración púrpura (Figura 1) (Velicheti & Sinclair, 1994), desde pequeñas manchas hasta cubrir las semillas, lo que puede afectar su poder germinativo (Figura 2) o producir plántulas débiles (Hartman et al., 2015; Pathan et al., 1989). En condiciones controladas de

ISSN 2215-3608 doi:10.15517/am.v33i3.48494

Figura 1. Síntomas de la mancha púrpura de la semilla (MPS) causada por *Cercospora kikuchii* en soja (*Glycine max* L. Merr).

Figure 1. Symptoms of the purple seed stain (MPS) caused by *Cercospora kikuchii* on soybeans (*Glycine max* L. Merr).

Figura 2. Síntomas y signos de la mancha púrpura de la semilla (MPS) causada por *Cercospora kikuchii* en soja (*Glycine max* L. Merr).

Figure 2. Symptoms and signs of purple seed stain (MPS) caused by *Cercospora kikuchii* on soybean (*Glycine max* L. Merr).

laboratorio, se observó que *C. kikuchii* podía reducir el poder germinativo y el vigor de las semillas de soja (Yeh & Sinclair, 1980). Sin embargo, estudios recientes realizados en Argentina, demostraron que *C. kikuchii* no reduce el poder germinativo en las semillas de soja en condiciones controladas de laboratorio (Lavilla & Ivancovich, 2016).

En el cultivo de soja se demostró que el estado fenológico R_7 (Fehr et al., 1971) es el momento en el que se transmite C. *kikuchii* desde los carpelos a la semilla (Pioli et al., 2000).

C. kikuchii coloniza la testa de la semilla de soja, donde produce la pigmentación purpúrea característica de la MPS. El hongo penetra los tejidos embrionarios de la semilla y causa necrosis en las células y elementos vasculares (Ilyas et al., 1975, Singh & Sinclair, 1986). Además, se ha demostrado que la infección de los patógenos sobre las semillas de soja podría ocurrir por el xilema, a través del hilo, o por contacto y penetración localizada, a través de los poros epidérmicos o heridas en los tegumentos seminales (Singh & Sinclair, 1986).

En diversos patógenos de las semillas de soja, la transmisión de los mismos desde los carpelos a las simientes fue mejor explicada a través de la asociación patógeno – sección carpelar - semilla, ubicada en la posición peduncular o más próxima al tallo principal, respecto a las posiciones medias y apicales del fruto (más distales al tallo) (Pioli et al., 1994; 2000). Estudios recientes demostraron que *C. kikuchii* crece a través del parénquima del mesocarpio de las vainas, luego pasa por la nervadura adaxial, luego penetra por el hilo hasta introducirse en la cubierta seminal, lo que provoca la característica mancha morada (Pioli et al., 2000).

Síntomas del tizón foliar

Las infecciones foliares en períodos reproductivos se manifiestan con lesiones rojo violáceas angulares o irregulares sobre ambas caras de los folíolos (Figura 3) (Ivancovich, 2011; Ivancovich et al., 2002).

Figura 3. Síntomas del Tizón Foliar (TF) causado por *Cercospora kikuchii* en folíolos de soja (*Glycine max* L. Merr). La flecha negra indica los síntomas iniciales en el folíolo de soja.

Figure 3. Symptoms of Leaf Blight (TF) caused by *Cercospora kikuchii* on soybean leaflets (*Glycine max* L. Merr). The black arrow indicates the initial symptoms on the soybean leaflet.

Bajo severas infecciones se observa necrosis de coloración pardo – violáceo en tallos (Figura 4), pecíolos y folíolos, asociadas a la presencia de una toxina fotoactiva (Hartman et al., 1988; Kuyama & Tamura, 1957; Upchurch et al., 1991), que causa defoliación prematura y reducción del rendimiento al afectar la etapa de llenado de granos y el peso final de ellos (Bluhm et al., 2010; Ross, 1975; Walters, 1980).

Morfología de *Cercospora kikuchii*

El crecimiento de *C. kikuchii* en medios agarizados es denso. Las colonias son blancas, grisáceo-oliva, rosadas, verdosas o negras. Algunos aislamientos de *C. kikuchii* pueden producir un característico color rojo púrpura que se difunde en los medios y que se relaciona con una toxina fotoactiva denominada cercosporina (Figura 5) (Hartman et al., 2015; Murakishi, 1951).

Los conidios son hialinos, aciculares, multiseptados, de forma recta a curva, truncados en la base y su tamaño oscila entre 2,5-5 x 50-375 m (Figura 6) (Chupp, 1954; Hartman et al., 2015). Los conidióforos son marrones, multiseptados, no ramificados y de 4-6 x 45-220 m (Figura 7) (Chupp, 1954; Hartman et al., 2015). *C. kikuchii*

Figura 4. Síntomas del Tizón Foliar (TF) causado por *Cercospora kikuchii* en tallos, pecíolos y vainas de soja (*Glycine max* L. Merr).

Figure 4. Symptoms of Leaf Blight (TF) caused by *Cercospora kikuchii* on stems, petioles and pods of soybean (*Glycine max* L. Merr).

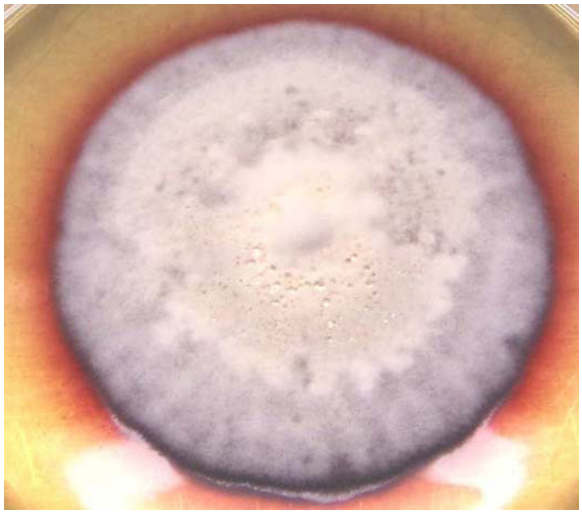

Figura 5. Colonia de *Cercospora kikuchii* aislada en medio de cultivo agar papa dextrosa.

Figure 5. *Cercospora kikuchii* colony isolated on potato dextrose agar culture medium.

ISSN 2215-3608 doi:10.15517/am.v33i3.48494

Figura 6. Conidio de *Cercospora kikuchii*.

Figure 6. *Cercospora kikuchii* conidium.

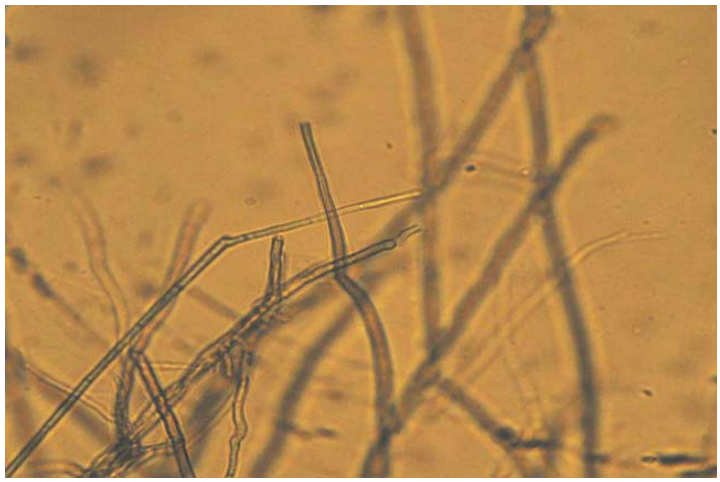

Figura 7. Conidióforos de *Cercospora kikuchii*.

Figure 7. *Cercospora kikuchii* conidiophores.

presenta una abundante esporulación en el tejido de soja infectado en campo, sin embargo, no esporula muy bien en medios de cultivos agarizados (Chen et al., 1979; Vathakos & Walters, 1979; Yeh & Sinclair, 1980).

Patogénesis. Ciclo biológico de *Cercospora kikuchii* y desarrollo de la enfermedad

C. kikuchii es un patógeno policíclico, que cada doce días desarrolla una nueva generación de conidios dentro del cultivo de soja, si las condiciones climáticas son favorables. Estudios de aerobiología de *C. kikuchii*, en Brasil, concluyeron que el mayor número de conidios en el aire se producen entre las 8 y las 15 h del día, con una humedad

relativa superior a 80 % y temperaturas entre 23 ºC y 27 ºC, lo que indica que la cantidad de conidios en el aire podría ser utilizada para el monitoreo de la enfermedad (Hartman et al., 2015; Kudo et al., 2011; Schuh, 1993; Yeh & Sinclair, 1980; Ward, 2015).

En las semillas infectadas, la testa se abre antes de la emergencia y, por lo tanto, las plántulas escapan a la infección. Sin embargo, si la testa queda adherida al cotiledón y emerge con la plántula, incrementa el inóculo inicial de la enfermedad (Hartman et al., 2015; Malvick, 2018). Pero como *C. kikuchii* es un patógeno policíclico, el inóculo inicial no es importante en la evolución de la enfermedad.

Estudios histopatológicos demostraron que las hifas de C. *kikuchii* penetran a las semillas de soja a través de la región hiliar, colonizan las traqueidas hiliares y luego el parénquima estrellado. La penetración en las simientes también puede ocurrir a través de los poros epidérmicos y/o grietas en la testa. *C. kikuchii* puede invadir los tejidos del embrión, el endosperma y la cubierta de la semilla. En general, *C. kikuchii* se localiza en el recubrimiento de la semilla y/o en los cotiledones y/o en el eje hipocótil-radícula, forma agregados hifales en la testa y causa necrosis de las células cotiledóneas y elementos vasculares (Hartman et al., 2015; Pioli et al., 2000).

El proceso de infección en plantas de soja se inicia cuando los conidios y/o micelio, sobrevivientes en semillas o en rastrojos infectados, germinan y generan uno o varios tubos germinativos (Figura 8). Bajo condiciones controladas, 25 °C y saturación hídrica (Schuh, 1991), el 50 % de los conidios germinan a las 2 h de incubación (Figura 9). El tubo germinativo penetra en la superficie del folíolo del hospedante, a través de los estomas, y se desarrollan las hifas primarias y secundarias que colonizan el mesófilo. Las hifas liberan micotoxinas (Almeida et al., 2005; Latorre Rapela et al. 2015; Velicheti, 1994) que destruyen las células circundantes, necrosa los tejidos y provocan los síntomas del TF. Las hifas de *C. kikuchii* pueden encontrarse en la superficie de pétalos, folíolos, vainas y semillas, en el ovario y la testa de la semilla (Chen et al., 1979), y crecer en el cotiledón a través de los poros de la misma durante la germinación de la semilla.

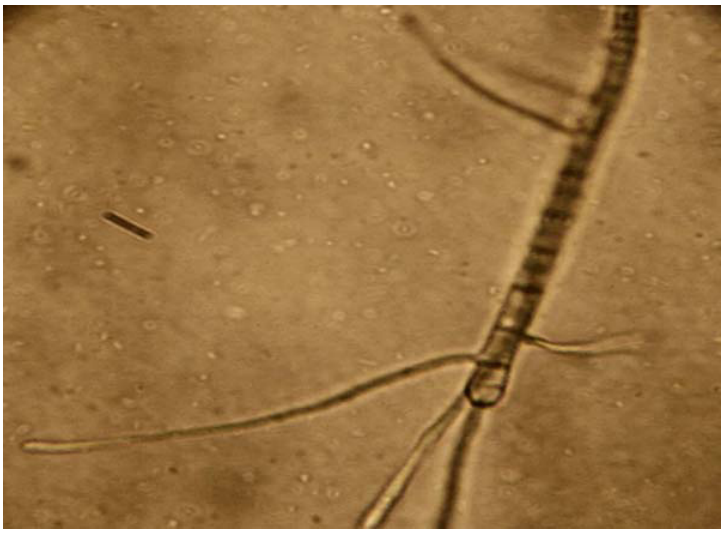

Figura 8. Conidio de *Cercospora kikuchii* germinado.

Figure 8. Germinated conidia of *Cercospora kikuchii*.

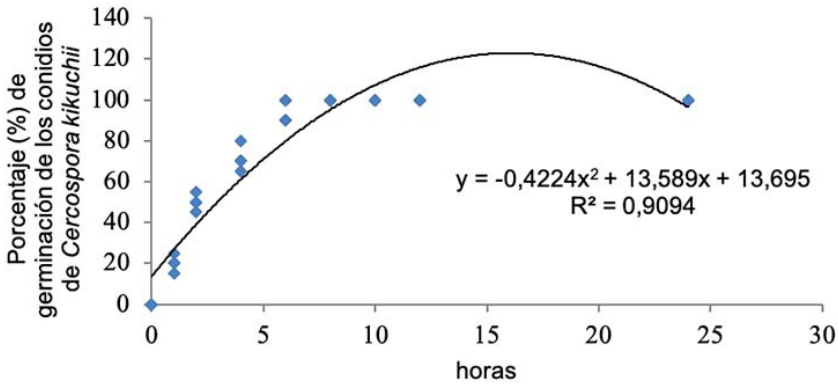

Figura 9. Germinación de los conidios de *Cercospora kikuchii* bajo condiciones controladas (25 °C y saturación hídrica).

Figure 9. Germination of *Cercospora kikuchii* conidia under controlled conditions (25 °C and water saturation).

Después de tres a cinco días de la infección, se forman los conidióforos, en los cuales, a partir de la célula conidiógena, se produce una nueva generación de conidios libres que se propagan por viento para iniciar un nuevo ciclo biológico de *C. kikuchii* y por ende, desarrollo de la enfermedad (Figura 10). Durante la conidiogénesis, un solo núcleo migra al extremo apical del conidio y luego da lugar a todos los núcleos en el conidio. Los conidios maduros incluyen de 13 a 27 células, la mayoría de las cuales son uninucleadas. Las células apicales o basales del conidio formarán conidióforos (Fernandez et al., 1991).

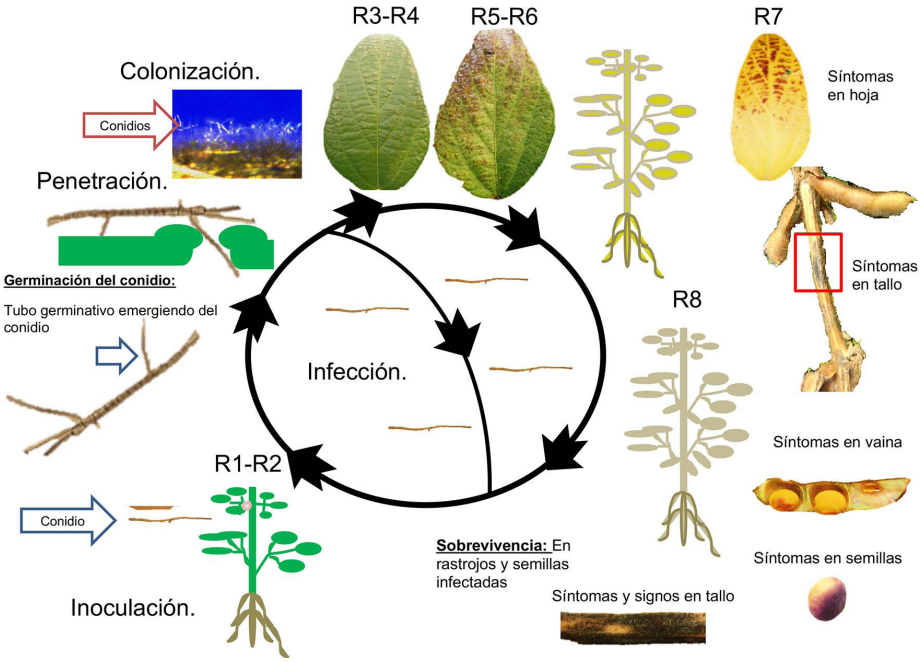

Figura 10. Ciclo biológico de *Cercospora kikuchii* y desarrollo de la enfermedad en soja (*Glycine max* L. Merr).

Figure 10. Biological cycle of *Cercospora kikuchii* and development of the disease in soybean (*Glycine max* L. Merr).

Los conidios y/o micelio que sobreviven en semillas y rastrojos infectados o en malezas hospederas del patógeno (Mc Lean & Roy, 1988), constituyen las fuentes de inóculo primario. La tasa de transmisión planta - semilla es muy baja y el mayor índice de infección por *C. kikuchii* en la semilla es de 2,12 % (Henning, 2005; Marinelli et al., 2011). La mayoría de las especies del género *Cercospora*, incluida *C. kikuchii*, no tienen estado sexual conocido, sin embargo, investigaciones recientes sugieren que su fase sexual pertenece al género *Micospharella* (Goodwin et al., 2001).

Epifitiología

Cuando un determinado patógeno se disemina e infecta a un gran número de individuos de una población en un área amplia y en un período corto, el fenómeno recibe el nombre de epifitia. El estudio de las epifitias y los factores que influyen sobre ellas se denomina epifitiología (Agrios, 2005). Las epifitias de las plantas ocurren en la mayoría de los cultivos de muchas partes del mundo. Algunas de ellas, escapan del control y se extienden o se tornan severas sobre alguna especie vegetal en particular (Agrios, 2005).

El TF y la MPS no han generado, aún, ninguna epifitia en Argentina, sin embargo, los datos relevados entre 2015 y 2018, por Lavilla, Ivancovich et al. (2021), demostraron que estas enfermedades son endémicas en el país. La interacción entre el hospedante susceptible, el patógeno virulento y el ambiente predisponente en un período prolongado, podría generar una epifitia del TF y/o de la MPS en Argentina (Figura 11; Agrios, 2005). Sin embargo, estudios recientes han encontrado ochenta genotipos de soja resistentes a *C. kikuchii* (Kashiwa & Suzuki, 2021).

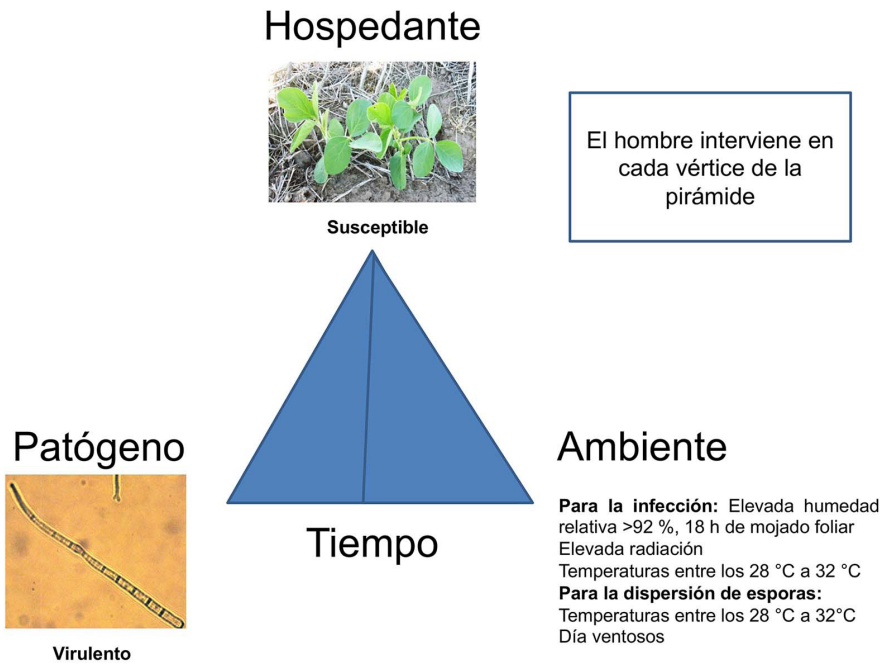

Figura 11. Factores predisponentes para la posible ocurrencia de una epifitia del Tizón Foliar y/o la Mancha Púrpura de la Semilla causadas por *Cercospora kikuchii* en Argentina según Agrios (2005).

Figure 11. Predisposing factors for the possible occurrence of an epidemic of Leaf Blight and/or Purple Seed Spot caused by *Cercospora kikuchii* in Argentina according to Agrios (2005).

Información morfológica de *Cercospora kikuchii*

El género *Cercospora* ha sido identificado en función de criterios taxonómicos clásicos como: forma y tamaño de los conidios y morfología, color y velocidad de crecimiento de las colonias (Martínez Culebra, 1999).

La observación de las características macroscópicas y microscópicas de *C. kikuchii*, en combinación con la información morfológica del género *Cercospora* publicada por Hartman et al. (2015), son herramientas necesarias para determinar el género y la especie. Para la identificación de *C. kikuchii*, es necesario la observación de sus estructuras somáticas y reproductivas, cuya formación puede ser inducida en medios de cultivo agarizados (Agrios, 2005). En diversos estudios se ha reportado una gran variabilidad morfológica de aislamientos de *C. kikuchii* de Argentina y Brasil (Almeida et al., 2005; Latorre Rapela, 2012). Se han realizado análisis macro y microscópicos de los aislamientos de *C. kikuchii*, con base en el color y el diámetro de la colonia, la producción de pigmentación rojiza y la presencia o ausencia de los elementos de fructificación característicos, y se encontró una amplia variabilidad morfológica entre ellos (Latorre Rapela, 2012) .

A partir del análisis morfológico de las variables cualitativas color de colonia (CC), densidad de micelio (DM) y presencia de pigmentación rojiza (PPR), se verificó que la DM y el CC son independientes del órgano del cual se aislaron las colonias, es decir, que la población patógena causal del TF y de la MPS es la misma en esas características (Lavilla, 2021). La PPR indicadora de la síntesis de cercosporina, se halla asociada a las variables región geográfica y órgano de procedencia del aislamiento. Esta asociación podría deberse a la mayor expresión de cercosporina en los aislamientos de *C. kikuchii* hacia el norte del país. Sin embargo, hubo mayor frecuencia relativa de colonias que expresaron cercosporina *in vitro* en los aislamientos del norte con respecto al sur. Es de esperar, a partir de diversas fuentes bibliográficas, que la toxina esté presente en mayor magnitud en las regiones cálidas, húmedas y con elevada radiación (Lavilla, 2021).

Información molecular de *Cercospora kikuchii*

Los análisis filogenéticos de las secuencias de regiones espaciadoras transcriptas internas y ADN ribosomal (ITS1, gen de ARNr 5.8S, ITS2), demostraron que el género *Cercospora* presenta su fase sexual dentro del género *Mycosphaerella* (Goodwin et al., 2001). La mayoría de los géneros anamórficos de *Mycosphaerella* son polifiléticos, lo que dificulta su agrupación en especies. Una excepción fue *Cercospora*, que formó un grupo monofilético compatible basado en características anamórficas (Goodwin et al., 2001). Dentro del género *Cercospora*, las especies presentes producen una toxina denominada cercosporina. La capacidad de producir esta toxina tiene un único origen evolutivo, ya que no se encontraron en otros géneros de hongos (Goodwin et al., 2001).

La variación intraespecífica para veinticinco taxones en el clado *Mycosphaerella*, promedió 1,7 nucleótidos (nts) en la región ITS. Por lo tanto, los aislamientos con secuencias ITS que difieren en dos o más nucleótidos pueden ser especies distintas. Secuencias ITS de los grupos I y II del patógeno *Cercospora zeae-maydis* difiere en 7 nts y representa especies diferentes. Hubo diferencias de 6,5 nts en promedio entre las secuencias ITS de los patógenos *Cercospora sorghi* y *C. sorghi* var. *maydis*, lo que indica que esta última es una especie separada y no una variedad de *C. sorghi*. El gran grupo monofilético de *Mycosphaerella* contiene varios géneros anamorfos sin asociaciones teleomorfas conocidas. Por lo tanto, el número de géneros anamorfos relacionados con *Mycosphaerella* puede ser mucho mayor de lo que se sospechaba (Goodwin et al., 2001).

C. kikuchii es una especie con una amplia variabilidad genética en el mundo (Groenewald et al., 2013; Soares et al., 2015). El patógeno fue introducido de Asia a América del Sur. El análisis de 405 aislamientos (160 correspondientes a Brasil y 245 a Japón), con el uso de marcadores moleculares de tipo AFLP, determinó que los linajes I y III estaban presentes en América del Sur y Japón. En total, 136 de los 160 aislamientos de América del Sur y 223 de los 245 aislamientos de Japón pertenecían al linaje I, lo que indica que este fue el principal en

cada área; además, cinco aislamientos de América del Sur y ocho de Japón pertenecían al linaje III. Los linajes II (doce aislamientos) y IV (dos aislamientos) eran específicos de Japón y los linajes V (tres aislamientos), VI (un aislamiento) y VII (quince aislamientos) eran exclusivos de América del Sur (Imazaki et al., 2006).

Se analizaron 36 aislamientos de *C. kikuchii*, provenientes de diferentes localidades de Brasil (Londrina, San Carlos Do Ivaí, Terra Boa, Santa Cecilia do Pavão, Nova Cantu, Peabiru, Rondonópolis, Chapadão do Céu, Luiziana, Mineiros, Goiatuba, Rio-Verde y Senador Carneiro), con el uso de marcadores *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) y pruebas de virulencia en laboratorio. Los resultados determinaron que los aislamientos brasileños de *C. kikuchii* de las diferentes localidades son variables para la virulencia y los patrones RAPD, no encontrándose asociación entre ambos (Almeida et al., 2005).

En Argentina, se detectó polimorfismo en el genoma de *C. kikuchii* proveniente de un mismo lote de soja, mediante la aplicación de la técnica de RAPD. Los oligonucleótidos OPA-01, OPA-03, OPA-08, OPH-18 y MC5, resultaron útiles para el estudio de diversidad genética entre los distintos aislamientos (Lurá et al., 2007).

Se determinó la diversidad genética de *C. kikuchii* en 164 aislamientos provenientes de dos establecimientos de la localidad de Luisiana, E.E.U.U., con RAPD y *Microsatellite-Primed Polymerase Chain Reaction*, y clasificaron los aislamientos de *C. kikuchii* en dos linajes significativamente diferentes (Cai & Schneider, 2008).

Un estudio filogenético exhaustivo de 360 aislamientos provenientes de 39 países, identificaron diversas especies dentro del género *Cercospora*, mediante secuenciación directa de las amplificaciones parciales derivadas de las regiones espaciadoras transcriptas internas y los genes 5,8S del ARNr nuclear, actina, calmodulina, histona H3 y factor 1 de elongación de la trascripción (Groenewald et al., 2013). Muchas de las especies de *Cercospora* mencionadas por Groenewald et al. (2013) se conocían solo por sus caracteres morfológicos *in vivo*, sin descripciones moleculares.

Estudios recientes realizados por Lavilla, Decker et al. (2021), demostraron que hay gran variabilidad, tanto morfológica como molecular, entre los aislamientos de *C. kikuchii* obtenidos de pecíolo y semilla en las regiones norte, pampa norte y pampa sur recolectados en los años 2015 y 2016. La variación molecular o la variación conjunta morfológica y molecular de los aislamientos no pudieron ser asociadas a las regiones o al origen (semillas o pecíolo). La variación molecular en los aislamientos de peciolo o semilla fue la misma. Los resultados de la investigación realizada por Lavilla, Decker et al. (2021) son congruentes con la existencia de una única especie, *C. kikuchii*, causante del TF y la MPS en Argentina.

El genoma a nivel de cromosoma de *C. kikuchii* se encuentra disponible. El ensamblaje del genoma de 9 *contigs* fue de 34,44 Mb y el N50 fue de 4,19 Mb (Kashiwa & Suzuki, 2021). Sobre la base de la predicción de genes *ab initio,* se identificaron varios genes candidatos relacionados con la patogenicidad, incluidos 242 genes para efectores putativos, 55 grupos de genes de metabolitos secundarios y 399 genes de enzimas activas en carbohidratos (Kashiwa & Suzuki, 2021).

Conclusión

El Tizón Foliar y la Mancha Púrpura de la Semilla son enfermedades endémicas en la Argentina. El patógeno causal de ambas enfermedades presenta una gran variabilidad genética y molecular en el país.

Referencias

Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology* (5th Rev. Exp. ed.). Academic Press.

Albu, S., Price, P., Doyle, V., & Schneider, R. (2014). Cryptic diversity within *Cercospora kikuchii* on soybean in Luisiana. *Phytopathology, 104*(Suppl. 2), S2.1.

Albu, S., Schneider, R. W., Price, P. P., & Doyle, V. P. (2016). *Cercospora* cf. *flagellaris* and *Cercospora* cf. *sigesbeckiae* are associated with Cercospora Leaf Blight and Purple Seed Stain on soybean in North America. *Phytopathology, 106*(11), 1376–1385. https://doi.org/10.1094/phyto-12-15-0332-r

Almeida, L. M. R., Piuga, F. F., Marin, S. R. R., Binneck, E., Sartori, F., Costamilan, L. M., Teixeira, M. R. O., & Lopes, M. (2005). Pathogenicity, molecular characterization, and cercosporin content of Brazilian isolates of *Cercospora kikuchii*. *Fitopatologia Brasileira, 30*(6), 594–602. https://doi.org/10.1590/s0100-41582005000600005

Bluhm, B. H., Burnham, A. M., & Dunkle, L. D. (2010). A circadian rhythm regulating hyphal melanization in *Cercospora kikuchii*. *Mycologia, 102*(6), 1221–1228. https://doi.org/10.3852/09-041

Botta, G., & Ivancovich, A. (1996). *Enfermedades de soja. Guía para su identificación a campo*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

Cai, G., & Schneider, R. W. (2008). Population structure of *Cercospora kikuchii*, the causal agent of Cercospora Leaf Blight and Purple Seed Stain in soybean. *Phytopathology, 98*(7), 823–829. https://doi.org/10.1094/phyto-98-7-0823

Carmona, M. A., Ploper, P., Grijalba, M., Gally, D., & Barreto, D. (2004). *Enfermedades de fin de ciclo del cultivo de soja. Guía para su reconocimiento y manejo*. Universidad de Buenos Aires.

Chen, M. D., Lyda, S. D., & Halliwell, R. S. (1979). Infection of Soybeans with Conidia of *Cercospora kikuchii*. *Mycologia, 71*(6), 1158–1165. https://doi.org/10.2307/3759102

Chupp, C. (1954). A monograph of the fungus genus *Cercospora*. *AIBS Bulletin, 4*(3), 11. https://doi.org/10.1093/aibsbulletin/4.3.11-d

Distéfano, S., & Gadbán, L. (Eds.). (2009). *Prevalencia de mancha en ojo de rana (agente causal: Cercospora sojina Hara) en los Departamentos Unión y Marcos Juarez, provincia de Córdoba, durante la campaña 2008/2009*. Universidad Nacional de Santiago del Estero.

Egli, D. B. (2008). Comparison of corn and soybean yields in the United States: Historical trends and future prospects. *Agronomy Journal, 100*(S3), 79–88. https://doi.org/10.2134/agronj2006.0286c

Fehr, W. R., Caviness, C. E., Burmood, D. T., & Pennington, J. S. (1971). Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill 1. *Crop Science, 11*(6), 929–931. https://doi.org/10.2135/cropsci1971.0011183x001100060051x

Fernandez, F. A., Glawe, D. A., & Sinclair, J. B. (1991). Microcycle conidiation and nuclear behavior during conidiogenesis in *Cercospora kikuchii*. *Mycologia, 83*(6), 752–757. https://doi.org/10.2307/3760432

Goodwin, S. B., Dunkle, L. D., & Zismann, V. L. (2001). Phylogenetic Analysis of *Cercospora* and *Mycosphaerella* Based on the Internal Transcribed Spacer Region of Ribosomal DNA. *Phytopathology, 91*(7), 648–658. https://doi.org/10.1094/phyto.2001.91.7.648

Groenewald, J., Nakashima, C., Nishikawa, J., Shin, H. D., Park, J. H., Jama, A., Groenewald, M., Braun, U., & Crous, P. (2013). Species concepts in *Cercospora*: spotting the weeds among the roses. *Studies in Mycology, 75*(1), 115–170. https://doi.org/10.3114/sim0012

Hartman, P. E., Dixon, W. J., Dahl, T. A., & Daub, M. E. (1988). Multiple modes of photodynamic action by cercosporin. *Photochemistry and Photobiology, 47*(5), 699–703. https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1988.tb02767.x

Hartman, G. L., Rupe, J. C., Sikora, E. J., Domier, L. L., Davis, J. A., & Steffey, K. L. (2015). *Compendium of soybean diseases and pests* (5th ed.). American Phytopathological Society.

Henning, A. A. (2005). *Patologia e tratamento de sementes noções gerais*. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Soja.

Ilyas, M. B., Dhingra, O. D., Elias, M. A., & Sinclair J. B. (1975). Location of mycelium of *Diaporthe phaseolorum* var. sojae and *Cercospora kikuchii* in infected soybean seeds. *Plant Disease Reporter, 59*(1), 17–19. https://www.cabi.org/isc/abstract/19751317921

Imazaki, I., Iizumi, H., Ishikawa, K., Sasahara, M., Yasuda, N., & Koizumi, S. (2006). Effects of thiophanate-methyl and azoxystrobin on the composition of *Cercospora kikuchii* populations with thiophanate-methyl-resistant strains. *Journal of General Plant Pathology, 72*(5), 292–300. https://doi.org/10.1007/s10327-006-0285-9

Ivancovich, A. (2011). *Diagnóstico y manejo de enfermedades de soja*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

Ivancovich, A., Botta, G., D'Andrea, F., Marchi, L., Rostagno, J., & Sillón, M. (Eds.). (2002). *Relevamiento de enfermedades de fin de ciclo de la soja en áreas sojeras de las provincias de Buenos Aires y Santa Fe (Argentina) – pautas para su manejo a través del uso de fungicidas*. Universidad Nacional de Río Cuarto.

Kashiwa, T., & Suzuki, T. (2021). High-quality genome assembly of the soybean fungal pathogen *Cercospora kikuchii*. *G3 Genes|Genomes|Genetics, 11*(10), Article jkab27. https://doi.org/10.1093/g3journal/jkab277

Kudo, A., Blum, L., & Lima, M. (2011). Aerobiology of *Cercospora kikuchii*. *Ciencia Rural, 41*(10), 1682-1688. https://doi.org/10.1590/S0103-84782011005000128

Kuyama, S., & Tamura, T. (1957). Cercosporin. A pigment of *Cercospora kikuchii* Matsumoto et Tomoyasu. II. Physical and chemical properties of cercosporin and its derivatives. *Journal of the American Chemical Society, 79*(21), 5726–5729. https://doi.org/10.1021/ja01578a039

Latorre Rapela, M. G., Lurá, M. C., & Marcipar, I. (2015). Early detection of *Cercospora* species in soybean plants: Immunologic and molecular methods. *American Journal of Plant Sciences, 6*(18), 2939–2948. https://doi.org/10.4236/ajps.2015.618289

Latorre Rapela, M. G. M. (2012). *Diversidad morfo-genética de Cercospora en soja. Detección precoz de la infección por C. kikuchii* [Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Litoral]. Biblioteca virtual de la Universidad Nacional del Litoral. https://bit.ly/3QeA5m9

Lavilla, M. (2021). *Distribución geográfica, diversidad morfológica, genética y molecular de Cercospora kikuchii y su interacción con el cultivo de soja en Argentina* [Tesis Doctoral, no publicada]. Universidad Nacional de Rosario.

Lavilla, M., Decker, V., Ivancovich, A., & Díaz Paleo, A. (Eds.). (2021). *Análisis morfológico y molecular de aislamientos de Cercospora kikuchii provenientes de pecíolos y de semillas de soja de distintas regiones de la Argentina*. Asociación Argentina de Fitopatología.

Lavilla, M., & Ivancovich, A. (2016). *Propuestas de escalas para la evaluación, a campo y en laboratorio, del "tizón foliar" y la "mancha púrpura de la semilla", causadas por Cercopora kikuchii*. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. https://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/handle/20.500.12123/666

Lavilla, M., & Ivancovich, A. (2021). Relación entre enfermedades y rendimiento de granos de soja. *Agronomía Mesoamericana, 32*(2), 141–148. http://doi.org/10.15517/am.v32i2.44057

Lavilla, M., Ivancovich, A., & Díaz Paleo, A. (2021). Evaluación del tizón foliar y la mancha púrpura en semilla de soja en Argentina. *Agronomía Mesoamericana, 32*(2), 619–628. http://doi.org/10.15517/am.v32i2.43359

Lurá, M. C., Di Conza, J. A., González, A. M., Latorre Rapela, M. G., Turino, L., Ibáñez, M. M., & Iacona, V. (2007). Detección de variabilidad genética en aislamientos de *Cercospora kikuchii* contaminantes de un mismo sembradío de soja. *Revista Argentina de Microbiología, 39*(1), 11–14.

Malvick, D. (2018). *Cercospora leaf blight and purple seed stain of soybean*. University of Minnesota Extension. https://bit.ly/3vUOxbi

Marinelli, A., Mainardi, A., March, G., Oddino, C., & García, J. (2011, 14-16 de septiembre). *Transmisión de Cercospora kikuchii (tizón de la hoja, mancha púrpura de la semilla) y su detección temprana en el cultivo* [Resumen]. 5° congreso de la soja del Mercosur. Primer foro de la soja Asia-Mercosur, Rosario, Argentina.

Martínez Culebra, P. V. (1999). *Caracterización y diagnóstico molecular de las cepas de Colletotrichum patógenas de plantas de fresa* [Tesis Doctoral, Universitat de València]. Roderic Respositori de Contingut Lliure. http://hdl.handle.net/10550/38261

Matsumoto, T., & Tomoyasu, R. (1925). Studies on purple speck of soybean seed. *Japanese Journal of Phytopathology, 1*(6), 1–14. https://doi.org/10.3186/jjphytopath.1.6_1

Mc Lean, K., & Roy, K. (1988). Purple seed stain of soybean caused by isolates of *Cercospora kikuchii* from weeds. *Canadian Journal of Plant Pathology, 10*(2), 166–171. https://doi.org/10.1080/07060668809501749

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. (2018). *Datos abiertos*. https://www.magyp.gob.ar/datosabiertos/

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. (2019). *Datos abiertos*. https://www.magyp.gob.ar/datosabiertos/

Murakishi, H. H. (1951). Purple seed stain of soybean. *Phytopathology, 41*, 305–318.

Pathan, M. A. (1989). Effects of *Cercospora kikuchii* on soybean seed germination and quality. *Plant Disease, 73*(9), 720–723. https://doi.org/10.1094/pd-73-0720

Pioli, R. N., Benavidez, R., Morandi, E. N., & Bodrero, M. (2000). Epidemiological study of diseases associated with soybean carpels and seeds in Santa Fe Province, Argentina. *Fitopatología, 35*(2), 111–118. https://bit.ly/3kZ99bS

Pioli, R. N., Bisaro, V., & Capuccio, S. (1994). Degree of relation between *Fusarium graminearum* and *Phomopsis* sp. isolates resulting from carpels and their corresponding seeds. *Communications Biology, 12*(2), 183.

Ross, J. P. (1975). Effect of overhead irrigation and benomyl sprays on late – season foliar diseases, seed infection, and yields of soybean. *Plant Disease Report, 59*(10), 809–813.

Sautua, F. J., Gonzalez, S. A., Doyle, V. P., Berretta, M. F., Gordó, M., Scandiani, M. M., Rivarola, M. L., Fernandez, P., & Carmona, M. A. (2019). Draft genome sequence data of *Cercospora kikuchii*, a causal agent of Cercospora leaf blight and purple seed stain of soybeans. *Data in Brief, 27*, Article 104693. https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.104693

Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., McRoberts, N., & Nelson, A. (2019). The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology & Evolution, 3*(3), 430–439. https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y

Schoch, C. L., Ciufo, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., Mcveigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database, 2020*, Article baaa062. https://doi.org/10.1093/database/baaa062

Schuh, W. (1991). Influence of temperature and leaf wetness period on conidial germination *in vitro* and infection of *Cercospora kikuchii* on soybean. *Phytopathology, 81*(10), 1315–1318. https://doi.org/10.1094/phyto-81-1315

Schuh, W. (1993). Influence of interrupted dew periods, relative humidity, and light on disease severity and latent infections caused by *Cercospora kikuchii* on soybean. *Phytopathology, 83*, 109–113. https://doi.org/10.1094/phyto-83-109

Singh, T., & Sinclair, J. B. (1986). Further studies on the colonization of soybean seeds by *Cercospora kikuchii* and *Phomopsis* sp. *Seed Science and Technology, 14*, 71–77. https://www.cabi.org/isc/abstract/19861316980

Soares, A. P. G., Guillin, E. A., Borges, L. L., Silva, A. C. T. D., Almeida, L. M. R. D., Grijalba, P. E., Gottlieb, A. M., Bluhm, B. H., & Oliveira, L. O. D. (2015). More *Cercospora* species infect soybeans across the Americas than meets the eye. *PLOS ONE, 10*(8), Article e0133495. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133495

Suzuki, K. (1921). Studies on the cause of "shihan" of soybeans. *Chosen Nakaiho, 16*, 24–28.

Upchurch, R. G., Walker, D. C., Rollins, J. A., Ehrenshaft, M., & Daub, M. E. (1991). Mutants of *Cercospora kikuchii* altered in cercosporin synthesis and pathogenicity. *Applied and Environmental Microbiology, 57*(10), 2940–2945. https://doi.org/10.1128/aem.57.10.2940-2945.1991

Vathakos, M. G., & Walters, H. J. (1979). Production of conidia by *Cercospora kikuchii* in culture. *Phytopathology, 69*, 832–833.

Velicheti, R. K. (1994). Production of cercosporin and colonization of soybean seed coats by *Cercospora kikuchii*. *Plant Disease, 78*(4), 342–346. https://doi.org/10.1094/pd-78-0342

Velicheti, R. K., & Sinclair, J. B. (1994). Production of cercosporin and colonization of soybean seed coats by *Cercospora kikuchii*. *Plant Disease, 78*(4), 342–346. https://doi.org/10.1094/pd-78-0342.

Walters, H. J. (1980). Soybean leaf blight caused by *Cercospora kikuchii*. *Plant Disease, 64*(10), 961–962. https://doi.org/10.1094/pd-64-961

Ward, B. M. (2015). *Effects of minor elements on Cercospora kikuchii, cercospora leaf blight and rust on soybeans* (Master's Theses, Louisiana State University), Louisiana State University Repository. https://bit.ly/3K636y7

Yeh, C. C., & Sinclair, J. B. (1980). Sporulation and variation in size of conidia and conidiophores among five isolates of *Cercospora kikuchii*. *Plant Disease, 64*(4), 373–374. https://doi.org/10.1094/pd-64-373