

Tesis de Maestría

Estudio del efecto de la aplicación de agroquímicos sobre la micoflora contaminante de soja

Frusteri, Lucila Mabel

2010

Tesis presentada para obtener el grado de Magister de la
Universidad de Buenos Aires en el área de Bromatología y
Tecnología de la Industrialización de Alimentos de la
Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the Master's and Doctoral Theses Collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Frusteri, Lucila Mabel. (2010). Estudio del efecto de la aplicación de agroquímicos sobre la micoflora contaminante de soja. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n4842_Frusteri

Cita tipo Chicago:

Frusteri, Lucila Mabel. "Estudio del efecto de la aplicación de agroquímicos sobre la micoflora contaminante de soja". Tesis de Magister. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2010. http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n4842_Frusteri

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

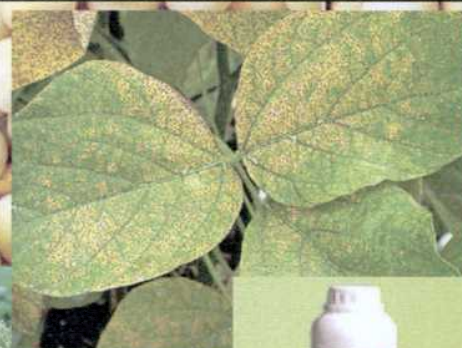


UBA

Universidad de Buenos Aires

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA APLICACION DE AGROQUIMICOS SOBRE LA MICOFLORA CONTAMINANTE DE SOJA

Lucila Mabel Frusteri



10/08/2010
478.812/2004

80704

Director: Dr. Héctor H. L. González

Tesis presentada para optar al título de Magister de la
Universidad de Buenos Aires en el área de Bromatología y
Tecnología de la Industrialización de Alimentos

2.010

A mis Padres y a mi hermano

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Héctor Horacio Lucas González por su guía científica, orientación, estímulo y dedicación para la elaboración de esta tesis.

A la Dra. Silvia L. Resnik por su inapreciable aporte científico en las diferentes etapas de este trabajo.

A la Dra. Elena J. Martínez por su valioso y cálido aporte del análisis estadístico de los datos.

A la Dra. María José Martínez por su apoyo en la concreción de este trabajo.

Al Magister Manuel Zelaya por su colaboración en los datos.

A la Sra. María E. Gómez por su amistad.

Al Departamento de Industrias de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos, donde realicé el trabajo experimental.

A la Universidad de Buenos Aires, al Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas, a la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, al proyecto Nacional INTA Número 1988-52-03 10 .

Lucila Mabel Frusteri

INDICE GENERAL

1.	Introducción.	1
2.	Objetivos.	60
3.	Materiales y Métodos.	63
4.	Resultados y Discusión.	82
5.	Conclusiones.	110
6.	Bibliografía.	113
7.	Anexo.	120

1. Introducción	1
1. I. Generalidades	1
1. II. Aspectos agroecológicos del cultivo de la soja	3
1. III. Producción y Comercio de las semillas de soja	7
1. III. 1. Situación Mundial	7
1. III. 2. Situación en la República Argentina	9
1. III. 3. Alimentación y nutrición humana	13
1. IV. Sanidad del cultivo de la soja	15
1. IV. 1. Enfermedades de la soja en Argentina	15
1. IV. 2. Principales enfermedades de la soja en la Región Pampeana Norte y Norte de Argentina	19
1. IV. 2. a- Podredumbre húmeda del tallo	19
1. IV. 2. b-Síndrome de muerte repentina	21
1. IV. 2. c- Podredumbre de raíz y tallo	21
1. IV. 2. d- Cancro del tallo	22
1. IV. 2. e- Podredumbre marrón del tallo	22
1. IV. 2. f- Mancha ojo de rana	22
1. IV. 2. g- El nematodo del quiste	23
1. IV. 2. h- Roya de la soja	24
1.V. Plagas del cultivo de soja	29
1. V. 1. Plagas del sistema foliar	29
1. V. 1. a- Oruga medidora (<i>Rachiplusia nu</i>)	30
1. V. 1. b- Oruga militar tardía (<i>Spodoptera frugiperda</i>)	30
1. V. 1. c- Oruga bolillera (<i>Helicoverpa gelotopoeon</i>)	32
1. V. 1. d- Gata peluda norteamericana (<i>Spilosoma virginica</i>)	33
1. V. 1. e- Oruga de las leguminosas (<i>Anticarsia gemmatalis</i>)	33
1. V. 1. f- Barrenador de brote (<i>Epinotia aporema</i>)	34
1. V. 1. g- Oruga cuarteadora (<i>Mocis latipes</i>)	35
1. V. 1. h- Isoca de la alfalfa (<i>Colias lesbias</i>)	36
1. V. 1. i- Chinchas (<i>Hemíptera</i>)	36
1. V. 1. j- Vaquita de San Antonio (<i>Diabrotica speciosa</i>)	37
1. V. 1. k- Tucuras (<i>Orthoptera</i>)	37
1. V. 1. l- Trips (<i>Thysanoptera</i>)	38

1. V. 1. II- Moluscos	39
1. VI. Malezas	40
1. VII. Agroquímicos	45
1. VII. 1. Insecticidas	45
1. VII. 1. 1. Fenitrothion	45
1. VII. 1. 2. Cypermethrin	46
1. VII. 1. 3. Chlorpirifos	46
1. VII. 1. 4. Endosulfan	47
1. VII. 2. Herbicida	49
1. VII. 2. 1. Glifosato	49
1. VII. 3. Fungicidas	51
1. VII. 3. 1. Folicur	52
1. VII. 3. 2. Opera	53
1. VII. 3. 3. Sphere	54
1. VII. 3. 4. Rundle	55
1.VIII- Hongos toxicogénicos presentes en las semillas de soja	56
2.Objetivos	60
3.Materiales y Métodos	63
3.I. Muestreo y diseño experimental	63
3. I. 1. Muestreo para insecticidas	63
3. I. 2. Muestreo para herbicida	64
3. I. 3. Muestreo para fungicidas	64
3. II. Micoflora	66
3. II. 1. Aislamiento de la micoflora contaminante	66
3. II. 1. a. Equipos y medios de cultivo para el aislamiento	66
3. II. 1. b. Procedimiento para el aislamiento de la micoflora contaminante	67
3. III. 1. Identificación de la micoflora contaminante	68
3. III. 1. a. Equipos y medios para la identificación	68
3. III. 1. b. Procedimiento para la identificación de la micoflora contaminante	70
3. III. 1. c. Identificación de los aislados de <i>Fusarium</i>	72

3. III. 1. d. Identificación de los aislados de <i>Aspergillus</i> y <i>Penicillium</i>	74
3. III. 1. e. Identificación de aislados de otros géneros	75
3. IV. 1. Expresión de los resultados y métodos estadísticos	77
3. IV. 1. a. Frecuencia de aislamiento y densidad relativa de géneros y especies	77
3. IV. 1. b. Test Asintótico para igualdad de proporciones	77
3. IV. 1. c. Test exacto de Fisher	81
4. Resultados y Discusión	82
4. I. Micoflora de las semillas de soja	82
4. I. 1. Micoflora endógena de las semillas de soja tratadas con insecticidas	82
4. I. 2. Micoflora endógena de semillas de soja tratadas con glifosato	90
4. I. 3. Micoflora endógena de las semillas de soja tratadas con fungicidas	98
5. Conclusiones	110
5. I. Efecto de la aplicación de insecticidas en semillas de soja	110
5. II. Efecto de la aplicación de glifosato en semillas de soja	111
5. III. Efecto de la aplicación de fungicidas en semillas de soja	111
6. Bibliografía	113
7. Anexos	123

1. INTRODUCCION

1.1. GENERALIDADES

La soja o soya (*Glycine max* (L.) Merrill) es una planta leguminosa cultivada por su semilla de alto contenido proteico y por los subproductos (principalmente aceite y harina de soja) que se utilizan en la alimentación humana y del ganado. También existen numerosas aplicaciones industriales para los diferentes componentes de esta semilla importante y versátil (ASA, 2.005).

Esta especie es nativa del Asia oriental (Manchuria) y se ha cultivado desde la antigüedad en China, Corea, Japón y la India. Su nombre proviene del japonés (soyhu). En América fue introducida en Estados Unidos en el siglo XVIII, sin embargo su gran expansión se inició a mediados del siglo XIX. A la Argentina llegó en las postrimerías del siglo XIX, pero su difusión se produjo a principios del siglo XX.

La soja pertenece al género *Glycine*, subgénero Soja, familia *Fabaceae* (*Leguminosae*), subfamilia *Faboideae*, tribu *Phaseoleae*, subtribu *Glycininae*. La palabra "*Glycine*" deriva del vocablo griego "glykys" (dulce) y probablemente hace referencia al sabor dulce de sus tubérculos. Es una planta anual, erecta, de 50-90cm de altura (**figura 1.1**), con hojas grandes, trifolioladas, folíolos oval-lanceolados, el terminal distante, midiendo hasta 7-10cm de longitud; racimos florales breves y axilares, con flores de aproximadamente 8mm de longitud, corola blanca o violácea; vainas péndulas 1-4, en general 2-seminadas, hirsutas, rectas o un poco encorvadas, pajizas o negruzcas, oblongas,

contraídas entre las semillas, de aproximadamente 3-5cm de longitud por 1cm de latitud. Existen variedades que difieren por el color (amarillo, negro, castaño, verdoso, etc.), la forma de las semillas y por caracteres de la planta. Industrialmente se utilizan las variedades amarillas, la presencia de semillas de otro color es considerada un defecto. Donde no se ha cultivado aún, debe inocularse la tierra con cultivos del bacilo específico fijador de nitrógeno en este caso *Rhizobium japonicum* (Dimitri, 1.980).

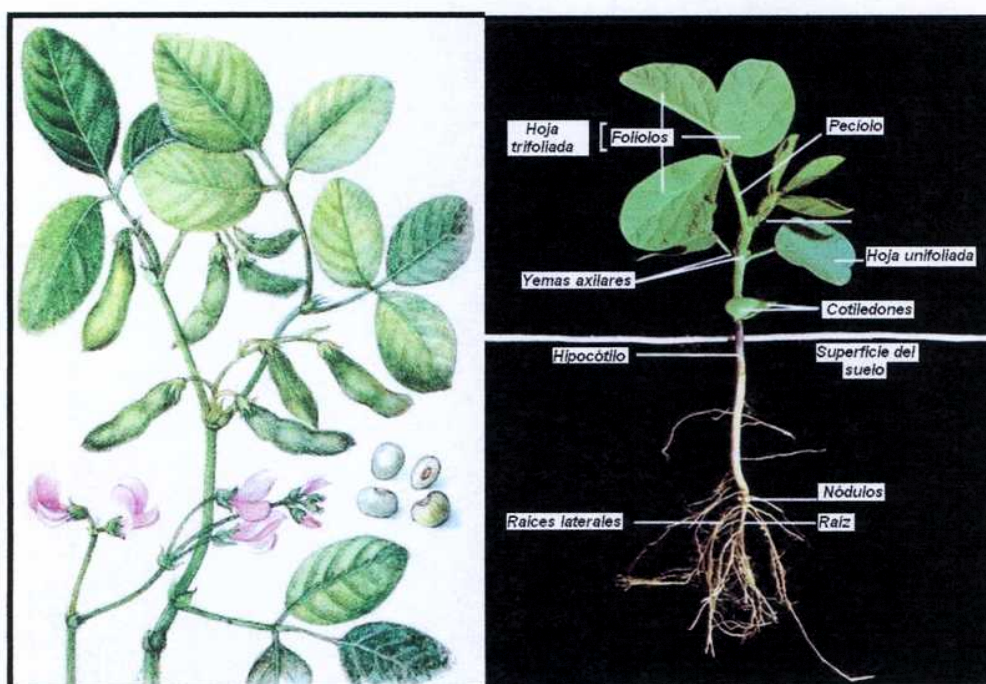


Figura 1.1. La planta de soja

Por su composición química ocupa una posición intermedia entre las legumbres y las oleaginosas debido a que contiene más proteínas (40%) que las demás legumbres pero menos grasas (21%). La composición puede variar de acuerdo a la variedad y condiciones de crecimientos. Usualmente un incremento del 1% en proteínas es acompañado por una disminución del 0,5% del aceite.

1. II. ASPECTOS AGROECOLÓGICOS DEL CULTIVO DE LA SOJA

Las etapas de una campaña sojera se distribuyen a lo largo del año (**tabla 1.II.1.**), sembrándose entre los meses de octubre, noviembre y diciembre (Sylvester, 2.009).

Tabla 1.II.1. Etapas de una campaña del cultivo de la soja

julio	Labranza y Barbecho	Siembra	Crecimiento y Desarrollo	Cosecha
agosto				
septiembre				
octubre				
noviembre				
diciembre				
enero				
febrero				
marzo				
abril				
mayo				
junio				

La elección del cultivar es una de las decisiones más importantes en la definición del potencial del rendimiento del cultivo y a su vez es extremadamente complicada debido a que se tienen que considerar la interacción genotipo-ambiente y su relación con la fecha de siembra (Robasco, 2.006). La soja disponible en el mercado posee cultivares (variedades), los cuales están ordenados, desde el ciclo más corto al más largo, en grupos de maduración (GM). Diferentes cultivares que integran un mismo GM tienen un ciclo similar, pero las características de cada cultivar pueden ser muy diferentes. En nuestro país cuanto más al Norte más opciones de GM se disponen para sembrar (GM3 a GM9), sin embargo hacia el Sur el período de cultivo es menor y por lo tanto existen menos opciones de GM: GM2 a GM4 (Belloso, 2.003).

La fecha de siembra óptima varía según la zona del país y el cultivar seleccionado y para ello el sistema más utilizado es el de siembra directa, técnica que evita pérdidas de tiempo y humedad en los suelos.

En términos prácticos, el crecimiento, desarrollo y rendimiento de la soja, son el resultado de un determinado potencial genético varietal interactuando con el ambiente. La planta de soja está en sintonía con el ambiente, a medida que el ambiente cambia también lo hace el desarrollo de la planta. Todas las variedades tienen un potencial de rendimiento máximo, que está genéticamente determinado. Este potencial genético se logra sólo cuando las condiciones ambientales son perfectas, pero tal condición de crecimiento perfecta no existe naturalmente. En una situación a campo, la naturaleza provee la mayor parte de la influencia ambiental sobre el desarrollo y rendimiento de la soja; no obstante, los productores de soja pueden manipular el ambiente con prácticas de manejo probadas. En consecuencia la tarea de los productores es proveer el mejor ambiente de crecimiento posible, utilizando prácticas de manejo tales como labranza adecuada y fertilización del suelo, selección de variedades y densidades de planta más adecuadas y controles oportunos de malezas, enfermedades y plagas (insectos). A medida que va creciendo la planta, se producen cambios morfológicos que resultan de la diferenciación y crecimiento de órganos.

En la **figura 1.II** se indican los períodos en los cuales aparecen y crecen los diferentes órganos en una escala arbitraria de tiempo (Kantolic, 2.003).

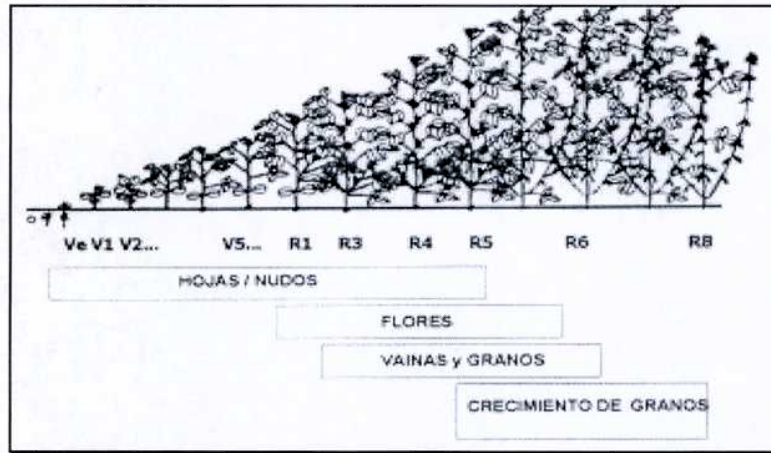


Figura 1.II. Ciclo del cultivo de la soja (Kantolic, 2.003)

El sistema de estados de desarrollo empleado divide el desarrollo de la planta en estados vegetativos (V) y reproductivos (R) (**tabla 1.II.2**). Las subdivisiones de los estados V son designados numéricamente como V1, V2, V3, hasta V(n), con excepción de los dos primeros estados, los cuáles son designados como VE (emergencia) y VC (cotiledonar). El último estado es designado como V(n), donde (n) representa el número del último estado nodal desarrollado. El valor de (n) cambia con la variedad y las diferencias ambientales. Las ocho subdivisiones de los estados R son designadas numéricamente y con sus respectivos nombres comunes en la **tabla 1.II.2**. Los estados vegetativos (estados nodales) que siguen a VC, están definidos y numerados de acuerdo al nudo de la última hoja desarrollada completamente. Un nudo con una hoja completamente desarrollada, es aquel que tiene una hoja por encima de él cuyos folíolos están

desplegados. Se define cómo estado V3, por ejemplo, cuando los folíolos del 1° (unifoliado) y hasta el 4° nudo están desplegados. De modo similar, el estado VC ocurre cuando las hojas unifoliadas están desplegadas. El nudo de las hojas unifoliadas es el primer nudo ó el punto de referencia desde el cual se comienza a contar hacia arriba para identificar el número de la última hoja. Este nudo es único, porque en él las hojas se insertan en forma opuesta sobre el tallo. Todas las otras hojas verdaderas formadas por la planta, son trifoliadas (compuestas) y con largos pecíolos y son producidas en forma individual (para los diferentes nudos) y en forma alterna (una de un lado del tallo y la siguiente del otro lado).

Tabla 1.II.2. Estados vegetativos y reproductivos de la planta de soja

Estados vegetativos	Estados reproductivos
VE Emergencia	R1 Inicio de floración
VC Cotiledonar	R2 Plenitud de floración
V1 Primer nudo	R3 Inicio de formación de vainas
V2 Segundo nudo	R4 Plenitud de formación de vainas
	R5 Comienzo de desarrollo de la semilla
	R6 Plenitud de llenado de semillas
	R7 Inicio de madurez
V(n) Nudo(n)	R8 Plenitud de madurez

Los ocho estados reproductivos (R) están agrupados en 4 etapas: R1 y R2, describen la floración; R3 y R4, la formación de vainas; R5 y R6, el desarrollo de la semilla y R7 y R8, la madurez. El crecimiento vegetativo y la producción de nudos continúan a través de algunos estados R, comprendiendo los estados V hasta alcanzar el número final de nudos. Los estados R1 a R6 son los que mejor describen el desarrollo

de la planta. La descripción de los estados R corresponden al inicio y la plenitud de cada etapa (Ritchie, 2.009). Una vez terminado el período de llenado de las semillas, se llega a un estadio denominado "madurez fisiológica", a partir del cual la semilla de soja comienza a perder humedad, siendo el punto óptimo para cosechar el cultivo, cuando la humedad de la semilla llega al 14%. Para el almacenamiento adecuado de las semillas se tienen que considerar la temperatura y la humedad. Esta última depende del contenido de lípidos. A mayor porcentaje de lípidos menor es la humedad que se considera adecuada para mantener la estabilidad y una buena viabilidad de la semilla (Pollio y col., 1.987).

1.III. PRODUCCIÓN Y COMERCIO DE LAS SEMILLAS DE SOJA

1.III.1. Situación mundial

La soja es el cultivo oleaginoso de mayor importancia a nivel mundial. Los principales países productores de soja en la actualidad son EE.UU., Brasil y Argentina (92% de las exportaciones mundiales). Las condiciones agroecológicas favorables sumadas a una adecuada infraestructura para el almacenaje y transporte son los factores que sitúan a estos países en posiciones de liderazgo.

La soja integra el grupo de los cultivos oleaginosos, sin embargo, su principal subproducto se destina al uso forrajero bajo la forma de concentrado proteico. Esto se debe a que el volumen de la producción mundial de este cultivo se destaca significativamente sobre el de los demás oleaginosos y en consecuencia, pese a su menor contenido de

aceite (18/19%), el aceite extraído en el procesamiento del poroto de soja lidera, con el 25 al 30% de la producción mundial las estadísticas de este subproducto. Por el mismo motivo, la harina proteica extraída del poroto de soja significa más del 60% del volumen de la producción global de este alimento proteico. De este modo, el análisis del denominado “complejo sojero” debe contemplar por un lado el comportamiento de la oferta y la demanda del grano de soja en el contexto de los demás cultivos oleaginosos y por otro, el de la harina y del aceite de soja y su competencia con los demás alimentos proteicos y grasos de origen vegetal y animal.

Una de las principales características del mercado de soja es que el mismo está integrado por muy pocos actores, EE.UU., Brasil y Argentina como los principales productores y exportadores, y China y la Unión Europea como los principales importadores (USDA, 2.006).

En el caso de la harina la producción y la exportación esta liderada por los países sudamericanos ya que el consumo interno, principalmente en Argentina, es muy bajo. China y la Unión Europea están adquiriendo importancia en la producción, aún así la Unión Europea sigue siendo el mayor importador de este producto. En el caso del aceite, el análisis es similar, Estados Unidos y Sudamérica (Brasil y Argentina) son los mayores productores y Argentina es el mayor exportador, pero la mayor diferencia está en la Unión Europea que en este caso pasa a ser un importante exportador de aceite, India aparece como el mayor importador de aceite de soja. En la actualidad la Argentina es el primer exportador mundial de aceite y harina de soja y

el tercer productor de semillas. China y la Unión Europea (EU-25) están adquiriendo importancia en la producción de harina, pero aún así, la EU-25 sigue siendo el mayor importador de este producto. Casi todo el volumen de los cultivos oleaginosos recogidos en todo el mundo se muele con objeto de obtener aceites y grasas para la nutrición humana o para fines industriales, y las tortas y harinas se utilizan como ingredientes en los piensos o balanceados. Es evidente que el nivel actual de los precios de las semillas oleaginosas está estimulando a los agricultores a aumentar la superficie sembrada y las inversiones conexas. Estos precios están en función de las condiciones meteorológicas y las incidencias de plagas, enfermedades y malezas en las diferentes regiones productoras.

1.III.2. Situación en la República Argentina

EL cultivo de la soja en Argentina tiene sus orígenes en el año 1.862, cuando se realizaron las primeras plantaciones, pero no encontraron eco en los productores agrícolas de aquellos años. Entre 1.910 y 1.920 comenzaron los primeros estudios en distintas escuelas agrícolas con el apoyo del sector público y privado con el fin de solucionar el problema de implantación que presentaba el cultivo. En 1.925, el Ministro de Agricultura Tomás Le Bretón, introdujo nuevas semillas de soja desde Europa y trató de difundir su cultivo, conocido en esa época entre los agrónomos del Ministerio como arveja peluda o soja hispida. Recién en 1.960 se intensificaron las investigaciones

acerca de los aspectos básicos de la soja como cultivo, cuando se introdujeron al país semillas de Asia, Europa y EE.UU. y se hicieron ensayos con grupos de diferentes variedades. La primera vez que Argentina exportó soja fue el 5 de Julio de 1.962 (6.000 toneladas con destino a Alemania). Su producción se incrementó notoriamente en los años 70 hasta alcanzar los niveles de la actualidad, convirtiendo a la Argentina en el tercer productor mundial de soja, el primer exportador mundial de aceite de soja y el segundo de harina de soja. Este importante aumento de producción se ha logrado no solo con incrementos de superficie sembrada, sino también con rendimientos unitarios que están entre los más altos del mundo. No debe sorprender, entonces, que la soja represente en la actualidad el rubro de exportación de mayor incidencia en el Producto Bruto Agropecuario del país, y el mayor generador de divisas.

Los estudios realizados permitieron conocer el comportamiento varietal, los requerimientos bioclimáticos y también establecer los grupos de madurez más adecuados para cada zona y época de siembra. Se logró el primer mapa de localización de variedades y también la clasificación de los tipos de agroclimas, lo que permitió disponer de una regionalización del territorio (**figura 1.III**). Actualmente el cultivo de soja ocupa una amplia zona ecológica que va desde los 23° de latitud Norte a los 39° de latitud Sur, con una gran concentración en la región Pampeana ya que en ella se siembra y se cosecha el 95% de la producción total del país.

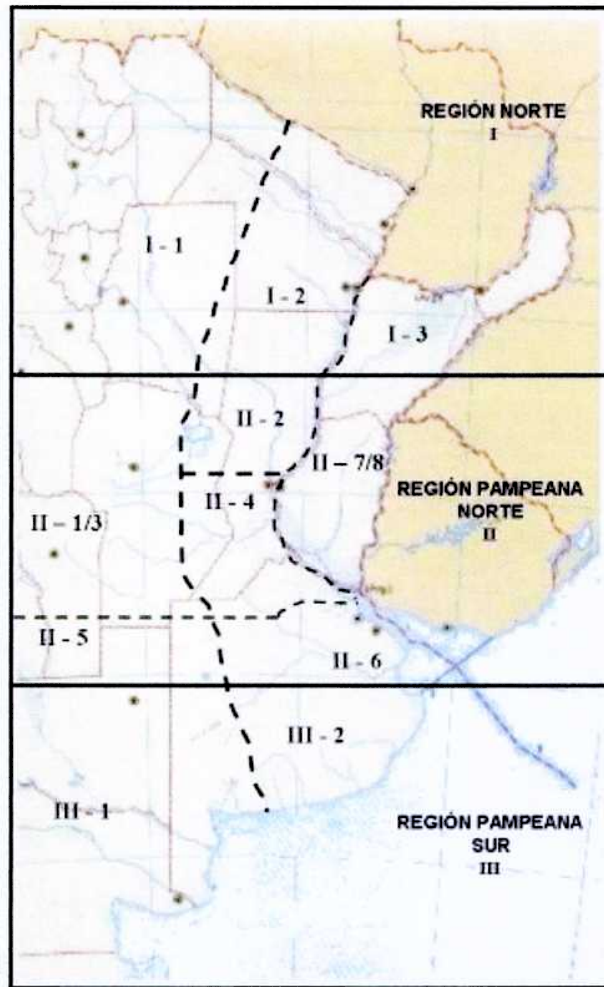


Figura 1.III. Regiones productoras de soja de la Argentina

El aumento significativo en la superficie sembrada que se observa año tras año se debe fundamentalmente a tres aspectos: la adaptación a un amplio rango de ambientes del cultivo de la soja, la mayor rentabilidad relativa y la simplificación de la producción del cultivo, características que se vieron potenciadas en los últimos años a partir de la siembra directa y los cultivares tolerantes a glifosato o RR (Roundup Ready).

El consumo interno tanto de aceite como de subproductos es mínimo, exportándose el 96% de la producción de harina de soja y el 95,8% de la producción de aceite (Cuniberti y col., 2.004).

La soja no sólo encabeza la lista de las oleaginosas sino también el de todos los cultivos producidos en el país, tendencia que se acentúa con el correr de los años. La soja en Argentina constituye el 43% del total exportado por los complejos agrícolas, ganaderos y agroindustriales y casi el 23% de las exportaciones totales, con valores que están cercanos a los 6.300 millones de dólares. Sin lugar a dudas, el salto cuantitativo logrado en los últimos años en el área sembrada y en la producción total de granos, tiene al cultivo de soja como uno de los principales protagonistas. El aumento de área en zonas ya tradicionales, junto al avance hacia otras franjas agroganaderas y forestales, explican el fenómeno desde el punto de vista geográfico.

El doble cultivo trigo-soja, la siembra directa y los materiales transgénicos, con el consecuente ahorro en los costos de producción y el aumento en la productividad por hectárea, lo hacen desde el punto de vista técnico económico unos de los cultivos con más ventajas competitivas. La principal razón del incremento de la producción de la soja en la Argentina es el aumento de la superficie dedicada a la actividad tanto por desplazamiento de otros cultivos, como por traslado de actividades ganaderas hacia áreas más marginales y por el aumento en la superficie agrícola del país. El porcentaje de la superficie agrícola ocupado por la oleaginosa está cerca del 50% del total del país, convirtiendo a la Argentina en un país fundamentalmente sojero.

Los pellets o harina de soja, principal subproducto de la molienda, se destinan esencialmente a la alimentación animal. Los países de la Unión Europea son los principales demandantes, debido a

que han debido reemplazar harinas animales para alimentación de ganado por proteínas vegetales.

El empleo de semilla transgénica, permitió extender el cultivo hacia otras regiones donde las condiciones agroecológicas no eran las más adecuadas para su producción. Casi la totalidad de la actividad industrial se localiza en la provincia de Santa Fe, en las zonas aledañas al río Paraná. Las plantas procesadoras se aprovisionan de soja en un radio de aproximadamente 300Km, lo que significa un reducido costo de flete. Los puertos de mayores embarques son San Lorenzo, San Martín y Rosario. La localización de las empresas a la vera del río Paraná permite una rápida salida a los mercados externos.

En términos generales, el 70% de la soja cosechada es transformada en las plantas aceiteras ubicadas en nuestro territorio. El consumo interno tanto de aceite como de subproducto es mínimo: 6% en caso del aceite de soja y 1,2% de los subproductos. Todo lo demás, el 93% del aceite de soja y el 98-99% de los subproductos salen por estos puertos.

1.III.3. Alimentación y nutrición humana

En la actualidad, la soja es la principal fuente de aceite vegetal y de proteínas para la nutrición animal y también humana (Jeroch y col., 1.999; AACREA, 2.009). El cultivo de soja es una fuente importante de producción de alimentos para el hombre. En Asia los productos de soja son alimentos sencillos y cotidianos. En cambio para los occidentales, son extraños y en ocasiones difíciles de aceptar. Se consume como

vegetal verde y fresco, porotos secos, harina, aceite, leche, carne vegetal, quesos, pastas, salsas y muchos otros productos.

La soja puede llegar a la mesa en forma inadvertida o por una elección libre y conciente. En ambos casos, los productos a base de soja o la semilla se pueden presentar de diferentes formas: como alimento natural, como productos elaborados por la industria o como preparados hogareños. Varios son los productos en base a soja que de a poco se han ido incorporando a nuestra alimentación. He aquí algunos de ellos:

- Semillas de soja enteras: Hay 2 tipos: 1) secas (soja común) y 2) verdes (Edamame), cosechadas antes de su maduración. Se utilizan como aperitivos, en ensaladas, sopas, etc.
- Brotes de soja
- Leche de soja, bebidas de soja con sabor, malteadas de leche de soja, mezclas de soja y jugos, yogurt de soja, etc.
- Okara (fibra dietética) y soja texturizada (sustituto de la carne picada)
- Aceite y harina de soja
- Tofu: Hay 4 tipos: 1) extra firme 2) firme 3) suave 4) de seda
- Comidas asiáticas: Salsa de soja, Miso, Natto y Tempeh
- Soynuts (similar al maní)

1.IV. SANIDAD DEL CULTIVO DE LA SOJA

La sostenibilidad productiva del cultivo de la soja depende fundamentalmente de factores biológicos y físicos que condicionan la producción y la calidad de la semilla de soja, estos son: clima, suelo, malezas, plagas (insectos) y enfermedades.

Entre las principales limitantes del cultivo en Argentina deben mencionarse a las enfermedades fúngicas, que han aumentado su importancia debido a los cambios climáticos, 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 inexistencia de cultivares con resistencia a la mayoría de las enfermedades (Carmona, 2.005).

1.IV.1. Enfermedades de la soja en la Argentina

La soja se cultiva en Argentina en una amplia zona, concentrándose en un 95% en la Región Pampeana Norte (provincias de Santa Fe, Córdoba, Entre Ríos, Buenos Aires, La Pampa y San Luis). El 5% restante se encuentra en la Región Norte del país: provincias de Tucumán, Salta, Santiago del Estero, Catamarca, Jujuy, Chaco, Formosa, Misiones y norte de Santa Fe.

El panorama fitosanitario actual es diferente al de hace 20 años atrás, cuando la soja era considerada como un cultivo sano (**figura**

1.IV.1.a).

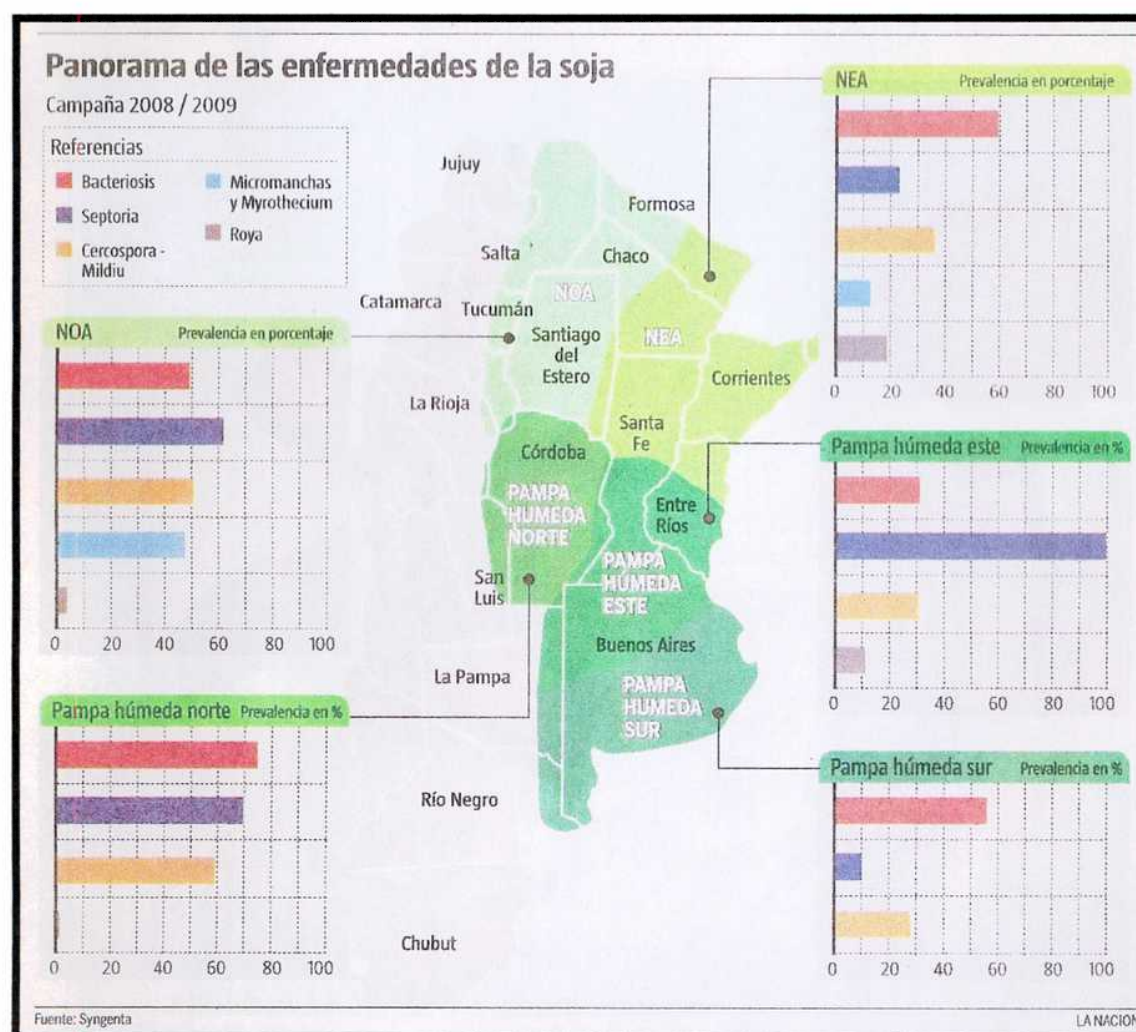


Figura 1.IV1.a. Distribución actual de las enfermedades del cultivo de soja en Argentina (La Nación, suplemento rural, 2.009)

Se están produciendo elevadas pérdidas de rendimiento y calidad, por la acción de hongos bacterias y virus fitopatógenos. Las pérdidas promedio estimadas en la actualidad para las principales enfermedades en la Argentina son de aproximadamente el 8 al 10% de la producción.

El aumento de los problemas sanitarios se debe a la falta de rotaciones de cultivos, uno de los componentes básicos del manejo de enfermedades, practicándose en los lotes de producción el monocultivo de manera tal que las enfermedades se han tornado limitantes (Satorre, 2.003).

Las enfermedades llamadas de fin de ciclo (**EFC**) y la roya asiática de la soja (**RAS**) merecen una consideración especial por varios motivos, entre los cuales se puede mencionar:

1) Existe un aumento considerable en la frecuencia e intensidad de las EFC generado principalmente por la siembra generalizada de soja bajo monocultivo y siembra directa, ya que los agentes etiológicos son, en su mayoría, necrotróficos con capacidad de supervivencia en los rastrojos.

2) Las EFC constituyen un complejo de agentes causales de incubación y latencia largos, es decir, hay infecciones previas que no son visualizadas como en otras enfermedades, lo que dificulta su manejo sanitario.

3) La RAS es mundialmente reconocida como la enfermedad más destructiva del cultivo.

4) Las epidemias tardías y la expansión geográfica de RAS en Argentina en las últimas campañas demuestran que el país es altamente vulnerable al ataque de esta enfermedad.

5) La capacitación, reconocimiento y adopción de medidas de manejo integrado son escasas, porque en el caso de EFC se necesita aún mayor investigación y extensión mientras que la RAS es, para la región, una nueva enfermedad (Carmona, 2.005).

Se entiende por EFC a un grupo de enfermedades cuyos síntomas se manifiestan en estados reproductivos intermedios y avanzados, causando disminución del área foliar sana y defoliación, madurez anticipada del cultivo y reducción del rendimiento. Algunos de los

patógenos causantes de las EFC infectan vainas y semillas afectando la calidad del producto cosechado (Gally y col., 2.004; Molina y col., 2.004).

Las principales EFC son: mancha ojo de rana (*Cercospora sojina*), tizón de la hoja y mancha púrpura (causado por *Cercospora kikuchii*), antracnosis (*Colletotrichum truncatum*), mancha marrón (*Septoria glycines*), tizón de la vaina y tallo (*Phomopsis sojae*), mildiú (*Peronospora manshurica*), mancha anillada (*Corynespora cassiicola*), mancha foliar por *Alternaria* (*Alternaria* spp.), pústula bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*) y tizón bacteriano (*Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*).

1.IV.2. Principales enfermedades de la soja en la Región Pampeana Norte y Norte de Argentina

1.IV.2.a. Podredumbre húmeda del tallo

Es una de las enfermedades más prevalentes del país y causa de importantes mermas de rendimiento. El organismo causal es *Sclerotinia sclerotiorum* (**figura 1.IV.2.1**).

Los primeros síntomas aparecen durante los períodos R3 y R4 (floración y formación de vainas) caracterizándose por la marchitez y secado de las hojas. Sobre la parte media del tallo se observa una mancha oscura y blanda que se recubre de micelio blanco algodonoso. A medida que las plantas maduran, se van formando esclerocios, estos son la principal fuente de inóculo y forma de sobrevivencia de una campaña a otra. Pueden además quedar en el suelo durante la cosecha o ser llevados junto a las semillas que contaminan. La extrema adaptabilidad del hongo y su capacidad de perpetuarse como esclerocio durante mucho tiempo hace difícil su control, por lo que se deberán complementar distintas prácticas de manejo, una de las cuales es la posible aplicación preventiva y no curativa de fungicidas foliares que cubran la planta.

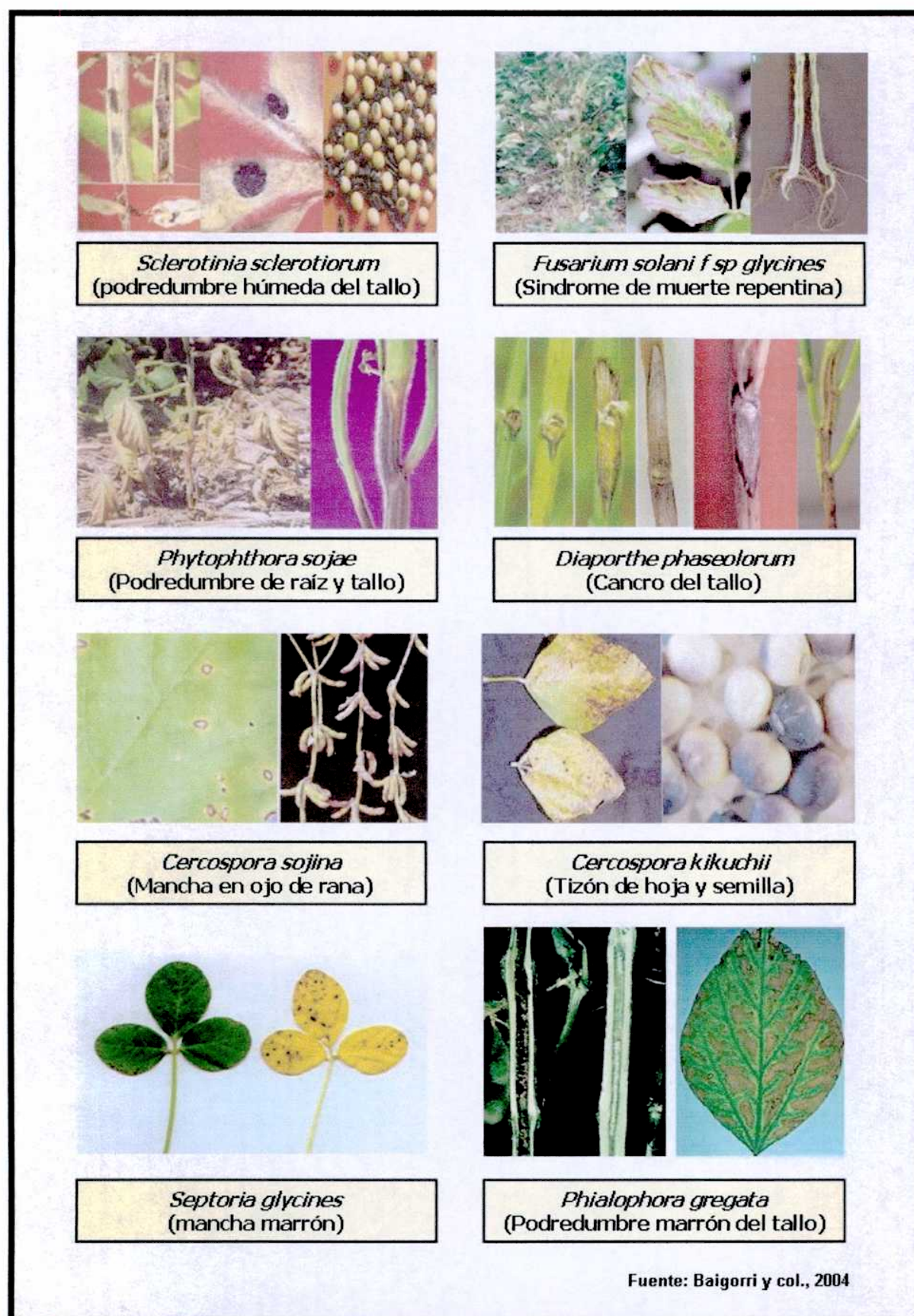


Figura 1.IV.2.1. Principales enfermedades de la soja en la Región Pampeana Norte y Norte de Argentina.

1. IV. 2. b. Síndrome de muerte repentina

Es una enfermedad que produce podredumbre radicular, aunque se manifiesta a través de síntomas foliares. El organismo causal es *Fusarium solani f sp.glycines* (**figura 1.IV.2.1**). Estos síntomas pueden aparecer desde floración hasta llenado de granos (R5-R6). Las hojas quedan de color marrón, a excepción de las nervaduras que permanecen verdes. Las plantas pueden aparecer aisladas o en manchones. Para su mejor manejo se recomiendan distintas medidas complementarias: sembrar semillas de alta calidad y vigor; sembrar en distintas fechas y variedades de distintos grupos de madurez, a fin de escapar a la enfermedad; realizar rotaciones que permitan disminuir los niveles de la enfermedad.

1. IV.2.c. Podredumbre de raíz y tallo

El organismo causal es *Phytophthora sojae* (**figura 1.IV.2.1**). Se observa podredumbre de semilla y damping off. Al estado de primera hoja, los tallos afectados presentan una podredumbre pardo-acuosa y hojas pálidas, terminando en la muerte de la plántula. En plantas más adultas (V7 a R3), el hongo ocasiona una podredumbre de la raíz y la base del tallo que se extiende hacia arriba, produciendo necrosis de los tejidos, y contrastando en color con el verde característico de los tejidos normales. Se sugiere tratar las semillas con fungicidas específicos y sembrar en suelos bien drenados.

1.IV.2.d. Cancro del tallo

El organismo causal es *Diaporthe phaseolorum var meridionalis* (**figura 1.IV.2.1**). Produce muerte de plantas desde mediados del ciclo hasta la madurez. El síntoma inicial se caracteriza por estrías o puntuaciones de color negro a castaño en la parte inferior del tallo. La principal fuente de inóculo lo constituyen los restos del cultivo anterior (monocultivo). Para el manejo de esta enfermedad se sugiere: siembra de semilla de calidad y tratada con fungicidas.

1.IV.2.e. Podredumbre marrón del tallo

El organismo causal es *Phialophora gregata* (**figura 1.IV.2.1**). Los síntomas de esta enfermedad se hacen visibles en estados fenológicos próximos a la madurez del cultivo. Se caracterizan por clorosis y necrosis internerval de las hojas, quedando una banda angosta verdosa que incluye las nervaduras. Las hojas pueden caer de 20 a 30 días antes de la madurez normal del cultivo, bajo condiciones de tiempo seco.

1. IV.2.f. Mancha ojo de rana

El organismo causal es *Cercospora sojina* (**figura 1.IV.2.1**). La mancha ojo de rana (MOR) es una enfermedad fúngica principalmente foliar, pudiendo presentar síntomas además en tallos, vainas y semillas.

En la actualidad se ha convertido en la principal EFC de la soja en Argentina debido al nivel de daños ocasionados y la extensión

geográfica observada para esta enfermedad (La Nación, suplemento rural, 2.010).

Los primeros síntomas en hojas se observan generalmente en floración, mientras que las lesiones en tallos y vainas aparecen al final del período de fructificación, como manchas alargadas deprimidas, castaño oscuras en los bordes y más claras en el centro. Las semillas presentan su tegumento con rajaduras y manchas color pardo claro. El patógeno sobrevive en semilla y restos de plantas afectadas. Una vez sembrada la semilla, se infecta la planta y en algunos días se produce la fructificación. Como medidas de manejo se sugiere el uso de variedades resistentes, tratar las semillas con fungicidas y la aplicación de fungicidas foliares en estadios reproductivos tempranos.

1.IV.2.g. El nematodo del quiste

El organismo causal es *Heterodera glycines*. La infestación del lote se observa en forma de manchones que pueden incrementarse anualmente. Cuando las poblaciones del nematodo son altas y las condiciones ambientales favorables para su desarrollo, las plantas afectadas detienen su crecimiento y se vuelven cloróticas o amarillentas, pudiendo defoliarse prematuramente. Una inspección cuidadosa de la superficie de las raíces permite observar las hembras diminutas, blancas y/o amarillas y los quistes marrones típicos del género *Heterodera* (**figura 1.IV.2.2**).



Figura 1.IV.2.2. Quistes típicos de *Heterodera glycines*.

Otras enfermedades endémicas de la soja son las del “damping off” (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. y *Pythium* spp.), el virus del mosaico de la alfalfa y el moteado del maní (Satorre, 2.003).

1.IV.2.h. Roya de la soja

La roya es una enfermedad de alto potencial destructivo que afecta al cultivo de la soja. Desde su identificación a comienzos del siglo pasado en Asia, la roya ha provocado severos daños en lotes de soja ubicados en varios continentes.

Esta enfermedad es causada por dos especies de hongos: *Phakopsora pachyrhizi* (**figura 1.IV.2.3**), originaria de Asia, y *Phakopsora meibomiae*, originaria de Sudamérica.

La especie asiática es más virulenta y agresiva que la sudamericana, por lo tanto ocasiona mayores daños económicos. La especie asiática fue encontrada en Hawai en 1.994, y causa pérdidas considerables de rendimiento en varios países asiáticos, hasta 40% en Japón y 80% en Taiwán.

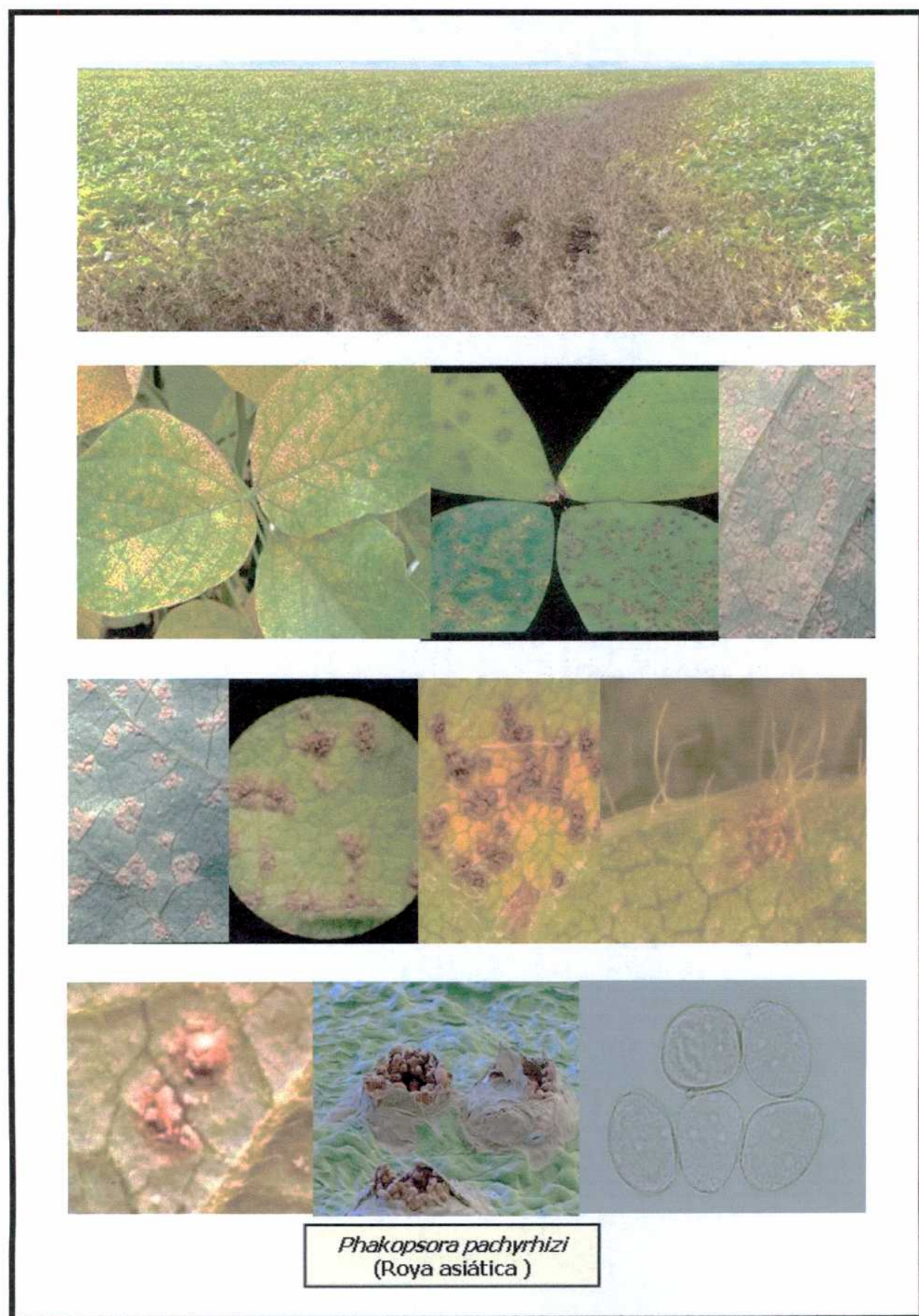


Figura 1.IV.2.3. Roya asiática de la soja (Baigorri y col., 2.004).

En Brasil y Paraguay la forma asiática ha sido observada durante los años 2.001 y 2.002. En ese mismo período fue encontrada en la provincia de Chaco, Argentina (Ivancovich y col., 2.002).

El patógeno tiene un ciclo corto y gran multiplicación. *P. pachyrhizi* presenta alta variabilidad genética, con la existencia de por lo menos 9 razas, lo que vuelve difícil el mantenimiento de variedades resistentes.

La infección por *P. pachyrhizi* provoca el amarillamiento y la caída prematura de las hojas, lo que impacta en el rendimiento del cultivo ya que perjudica la formación y llenado de granos. El mayor daño está relacionado con el inicio de la defoliación. Cuanto más temprano ocurre este proceso, menor es el peso y la calidad de los granos. En casos severos, cuando la enfermedad ataca a la soja en la fase de formación de las chauchas o en el comienzo de la formación de granos, puede causar el aborto y la caída de las mismas.

Los síntomas pueden presentarse en cualquier momento del ciclo del cultivo, pero se hacen más evidentes en plantas próximas a la floración, y avanzan desde las hojas inferiores hacia las superiores. Los primeros síntomas de la enfermedad son la aparición de puntos de coloración más oscura que el tejido foliar sano en la cara superior de las hojas. Correspondiendo con esos puntos oscuros, se observan unas pequeñas protuberancias con forma de “volcán”, que es la estructura de fructificación del hongo, los uredosoros (**figura 1.IV.2.3**). Con el tiempo estos cuerpos liberan las uredosporas. Estas uredosporas son los agentes diseminadores de la enfermedad y pueden sobrevivir hasta 50

días, siendo fácilmente dispersadas por el viento, lo que posibilita que la enfermedad pueda ser diseminada a grandes distancias geográficas. El agente causal de la roya es un patógeno policíclico (varias generaciones durante el ciclo del cultivo de la soja), con capacidad de producir abundantes uredosporas bajo condiciones ambientales favorables. Penetra en forma directa a través de la cutícula y la epidermis del hospedante, lo que hace que la infección sea rápida y fácil.

P. pachyrhizi es un patógeno biotrófico, que no sobrevive en los rastrojos infectados, sino en plantas espontáneas de soja y en numerosos hospedantes alternativos. Se han citado 31 especies en 17 géneros de leguminosas que son hospedantes de *P. pachyrhizi* en la naturaleza, y 24 especies en 19 géneros que son hospedantes de ambas especies de *Phakopsora*, entre las que se pueden mencionar a las siguientes: kudzu (*Pueraria lobata*), trébol (*Melilotus* spp.), lupino (*Lupinus hirsutus*), poroto (*Phaseolus vulgaris*), caupí (*Vigna unguiculata*). También han sido citadas como hospedantes diversas otras especies en los géneros *Cajanus*, *Crotalaria*, *Dolichos*, *Lablab*, *Medicago*, *Pachyrhizus*, *Rhynchosia* y *Vicia*.

La etapa ideal para cualquier aplicación en la soja es en el comienzo de los primeros síntomas, o sea, con la aparición de las primeras pústulas. El monitoreo del cultivo con el objetivo de inspeccionar las hojas inferiores y las condiciones climáticas son factores claves para el éxito de la aplicación y el control de la enfermedad. Las aplicaciones pueden sugerirse desde la etapa de plenitud de la floración (R2) hasta el llenado de granos (R5).

Entre las alternativas de manejo de la roya de la soja se mencionan el uso de cultivares resistentes y el uso de fungicidas de aplicación foliar. Hasta tanto no se dispongan de cultivares de buen comportamiento frente a la enfermedad la aplicación de fungicidas foliares apenas se detecten los primeros síntomas se constituye en una herramienta factible de ser utilizada para minimizar los daños causados por la roya. Si las condiciones favorables para la enfermedad persisten durante un tiempo prolongado pueden ser necesarias varias aplicaciones. La utilización de mezclas de principios activos de diferentes grupos químicos, con diferentes modos de acción, como benzimidazoles + triazoles, o estrobilurinas + triazoles, son particularmente importantes para la complementación del espectro de control de RAS + EFC, evitando la defoliación prematura y para evitar el desarrollo de resistencia por parte de los patógenos (Ivancovich y col., 2002). Entre los fungicidas mencionados para el control de la RAS están los siguientes: mancozeb, triazoles (cyproconazole, difenoconazole, epoxiconazole, tebuconazole) y estrobilurinas (azoxistrobina, pyraclostrobin, y trifloxystrobin).

1.V. PLAGAS DEL CULTIVO DE SOJA

La soja es muy atractiva para el desarrollo de numerosos insectos y otros animales. Desde la siembra hasta la madurez, la soja puede ser dañada en todos los estados de desarrollo y sufrir pérdidas significativas en rinde y calidad del grano. En el cultivo de soja se desarrolla junto a los insectos dañinos una importante y diversa fauna de organismos benéficos que controlan en forma natural el crecimiento de los insectos. Esta característica, junto a la particular capacidad de recuperación al daño de la planta de soja, permite que mediante el uso de los umbrales de tratamiento (densidad mínima de la plaga que justifica una medida de control) y el uso prudente de insecticidas, los gastos de protección del cultivo no afecten su rentabilidad, reduciendo a un mínimo los controles y evitando los problemas de contaminación ambiental y la aparición de razas de plagas resistentes a los biocidas.

1. V. 1. Plagas del sistema foliar

Estas son principalmente larvas de lepidópteros conocidos como orugas defoliadoras, pero también incluyen a las tucuras, trips, y moluscos, entre otras plagas animales. Las mismas difieren en su capacidad de daño, época de ataque y susceptibilidad a los biocidas utilizados para su control. Excepto *Spodoptera*, que suele atacar a la soja en enero, las demás pueden presentarse desde diciembre hasta abril.

Entre las de mayor difusión figuran:

1.V.1.a. Oruga medidora (*Rachiplusia nu*)

La oruga medidora (**figura 1.V.1.1**) tiene de 5 a 6 estadios larvales, alcanzando su máximo tamaño (30-35mm) a los 20-25 días de su nacimiento. Las orugas de último estadio son las que provocan los mayores daños, ya que consumen el 80-85% de lo ingerido en el total de su desarrollo. Se determinó que esta oruga consume entre 100 y 110 cm² de hojas de soja durante su período larval.

El complejo de enemigos naturales de *Rachiplusia nu* evita que este insecto se convierta en una plaga frecuente del cultivo de soja, por lo que es importante el uso de insecticidas selectivos para preservación. Se dispone de numerosos insecticidas para su control en soja. Siendo una especie muy sensible a los insecticidas piretroides, se pueden utilizar dosis muy reducidas, de pocos gramos/ha, lo que causa un bajo impacto en la población de artrópodos benéficos. En el mercado también existen varias formulaciones de la bacteria *Bacillus thuringiensis* insecticida biológico registrado para el control de orugas de la soja.

1.V.1.b. Oruga militar tardía (*Spodoptera frugiperda*)

Es una especie polifitófaga (**figura 1.V.1.1**) que se encuentra difundida desde Canadá hasta el sur de Argentina. Su nombre vulgar se debe a que algunas veces avanza formando amplios frentes y generalmente aparece luego de la oruga militar verdadera (*Pseudaletia adultera*), con la que puede confundirse en estado larval.



Nezara viridula
(Chinche verde)



Piezodorus guildinii
(Chinche de la alfalfa)



Epinotia aporema
(Oruga barrenadora)



Colias lesbia
(Isoca de la alfalfa)



Spodoptera frugiperda
(Oruga militar tardía)



Rachiplusia nu
(Oruga medidora)



Anticarsia gemmatilis
(Oruga de las leguminosas)



Helicoverpa gelatopoeon
(Oruga bolillera)



Mocis latipes
(Oruga cuarteadora)



Loxostege bifidalis
(Oruguita de la verdolaga)



Spilosoma virginica
(Gata peluda norteamericana)



Diabrotica speciosa
(Cucumber beetle)

Fuentes: Via rural (www.viarural.com.ar); Dow Agrosiences

Figura 1.V.1.1. Principales insectos perjudiciales para la soja en Argentina.

Se alerta sobre la presencia de esta plaga en cultivos de soja de primera y segunda en una amplia región del Sur de Santa Fe, produciendo ataques de importancia en conjunto con el complejo de orugas defoliadoras comunes en el cultivo de soja. Se sugiere realizar monitoreos en forma periódica, teniendo en cuenta que las larvas son de coloración variable, pero predominan las castañas, castañas verdosas y verdes con tres líneas longitudinales dorsales blancas o amarillentas que encierran las franjas más oscuras, con 4 puntos negros en cada segmento, cabeza castaña a negra con bordes de la frente claros formando una “Y” invertida de color blanco.

El Umbral de daño es de 15 a 20 orugas mayores de 10-15mm por metro de surco y más de 35% de defoliación, desde emergencia hasta floración y 10 orugas mayores de 10-15mm por metro de surco y más del 20% de defoliación, desde floración a madurez.

1.V.1.c. Oruga bolillera (*Helicoverpa gelotopoeon*)

Las larvas de esta especie alcanzan un tamaño máximo de 30-35mm (**figura 1.V.1.1**). El color de las orugas varía de amarillento a verde claro y negro. En plantas menores de 10cm de altura, la oruga bolillera consume, con preferencia, brotes y tallos tiernos. La planta puede recuperarse luego, emitiendo brotes axilares, fenómeno que origina plantas más bajas que lo normal, que dan menor rinde. En ataques al momento de llenado de las vainas, la oruga bolillera las destruye parcial o totalmente, o bien las perfora para consumir el grano en formación cuando las mismas ya son grandes.

Los ataques más severos y frecuentes ocurren en enero, especialmente en los cultivos de segunda época de siembra. En marzo ocurren los ataques a las vainas en formación. Se dispone de numerosos productos para su control en soja.

1.V.1.d. Gata peluda norteamericana (*Spilosoma virginica*)

La oruga alcanza una longitud máxima de 40-45mm (**figura 1.V.1.1**), con el cuerpo cubierto de largas cerdas de color blanco a castaño rojizo. Cuando finaliza su estado larval, teje un capullo protegido donde empupa. Los adultos son mariposas blancas de hábito nocturno o polillas. Durante enero ocurren infestaciones moderadas en soja, siendo mayor y más difundido los ataques a fines de febrero y marzo. En numerosos casos su control se puede realizar en bordes y cabeceras, donde suele registrarse una alta concentración de la plaga. Un número limitado de insecticidas está registrado para su control en soja.

1.V.1.e. Oruga de las leguminosas (*Anticarsia gemmatilis*)

La oruga de las leguminosas llega a medir de 35 a 40mm de longitud (**figura 1.V.1.1**) y se presenta en dos formas: una de color verde intenso y la otra de color oscuro a negro, con una serie de líneas blancas longitudinales. Una larva llega a consumir hasta 100 cm² de hoja de soja. Se alimenta de hojas, pero también puede consumir total o parcialmente vainas que aún no formaron granos. En la región pampeana los ataques ocurren en marzo y abril, en lotes de segunda época de siembra. Como las demás plagas de la soja los huevos y larvas

de esta especie son atacados por el complejo de predadores, parásitos (moscas taquínidas y avispa), hongos (*Nomuraea rileyi*) y virus (*Baculovirus anticarsia*). Se dispone de numerosos insecticidas para su control en soja, incluidos productos biológicos a base de *Bacillus thuringiensis* que brindan buen nivel de control. Además de una buena calidad de aplicación, es de gran importancia el monitoreo frecuente de los lotes con amenaza de ataque para efectuar el control con larvas de desarrollo intermedio, ya que las orugas grandes presentan mayor resistencia.

1.V.1 f. Barrenador de brote (*Epinotia aporema*)

Esta plaga está distribuida en todas las provincias donde se cultiva la soja. Las larvas chicas, hasta el tercer estadio, presentan la cabeza negra y el cuerpo blanco verdoso, mientras que en el cuarto estadio las larvas se tornan rosadas y la cabeza marrón claro (**figura 1.V.1.1**). La larva requiere 13-15 días para alcanzar su máximo desarrollo, unos 10mm. El estado de pupa tiene una duración de 9 a 13 días. La oviposición se efectúa en los brotes, donde luego desarrollan larvas que impiden la expansión normal de las hojas por medio de hilos sedosos. El brote atacado puede secarse y el insecto trasladarse a otros brotes vecinos o barrenar el tallo, lo que provoca una detención del crecimiento. Las larvas dañan flores y vainas, las que pueden ser destruidas totalmente cuando son pequeñas; en caso de que la infestación ocurra con vainas grandes, éstas son unidas por hilos sedosos que permiten, a las larvas, efectuar galerías superficiales e

introducirse en las mismas para dañar los granos. Ataca desde fines de diciembre hasta abril y se dispone de varios insecticidas registrados a base de productos fosforados y mezcla de fosforados más piretroides (Satorre, 2.003).

1.V.1.g. Oruga cuarteadora (*Mocis latipes*)

Se trata de una plaga ocasional, cuyas larvas se alimentan de la lámina de las hojas causando una intensa defoliación y deja, en algunos casos, sólo la nervadura central. La especie está asociada a la presencia de malezas hospederas, tales como grama, el pasto ruso y el pasto blanco. El adulto es una mariposa de hábito nocturno, de color gris claro a oscuro. La hembra coloca los huevos por lo general en las vellosidades del tallo o en el envés de la hoja. Las larvas recién nacidas, tienen de 1 a 2mm de largo, con dos bandas negras torácicas y dos rayas longitudinales amarillas en la cabeza y en el cuerpo. Las larvas bien desarrolladas pueden medir entre 40 y 50mm de largo (**figura 1.V.1.1**).

Finalmente, las larvas, para transformarse en pupa, doblan la punta de las hojas introduciéndose en su interior, formando un capullo. Los ataques comienzan primero en las malezas y cuando éstas ya no son suficientes para su alimentación, pasan al cultivo. Es por ello que es importante un buen control de malezas tanto en trocha y en surco, en cabecera de surcos y en callejones centrales. El monitoreo para detectar la presencia de larvas debe realizarse revisando las malezas y, si están presentes, debe evaluarse la conveniencia o no de tomar las

medidas de control, recomendándose en este último caso la aplicación de clorpirifos en una dosis de entre 800 y 900 cm³/ha, con un volumen de caldo de 150 L/ha para aplicaciones terrestres y 20 litros en aplicaciones aéreas.

1.V.1.h. Isoca de la alfalfa (*Colias leshias*)

La isoca de la alfalfa es de color verde claro, superficie aterciopelada y en los flancos tiene una banda blanca muy angosta (**figura 1.V.1.1**). En su máximo desarrollo puede tener hasta 35mm de largo. Las orugas requieren entre 14 y 18 días para completar su desarrollo en los meses de verano. Los adultos son mariposas con alas amarillas y hábitos diurnos. En cuanto a los productos químicos se recomiendan: Cypermethrin, Fentoato, Chlorpirifos A, Triclorfon, Metamídofo, Alfametrina, Deltametrina y Endosulfan 35.

1.V.1.i. Chinchas (*Hemiptera*)

Las chinchas pueden considerarse entre las plagas más importantes de la soja. Las chinchas succionan los granos en formación e introducen toxinas y patógenos por medio de un sistema bucal chupador. Las picaduras de las chinchas impiden el desarrollo de granos chicos y provocan deformaciones en los medianos. En granos grandes, reducen el poder germinativo, porque pueden producir la muerte del embrión. Las más dañinas son la chinche verde (*Nezara viridula*) y la chinche de la alfalfa (*Piezodorus guildinii*) (**figura 1.V.1.1**). Las poblaciones de chinchas están expuestas al ataque permanente de

parásitos y predadores. Los predadores como los arácnidos y varias especies de insectos, tienen también un rol destacado en el control de ninfas de chinches. Numerosos insecticidas y mezclas de insecticidas están registrados para el control de chinches en soja (Aragón, 2.002).

1.V.1.j. Vaquita de San Antonio (*Diabrotica speciosa*)

La larva es blanco amarillenta con extremos oscuros y tres pares de patas cortas y alcanza en su máximo desarrollo 6mm (**figura 1.V.1.1**). La pupa mide 10mm, es de tipo libre y color amarillento. El adulto mide unos 6mm de longitud. Es verde con 6 manchas amarillas o anaranjadas dispuestas uniformemente sobre los élitros.

Los adultos se alimentan de partes aéreas de las plantas, causando importantes daños en ornamentales, hortícolas y cultivos extensivos. Además se alimentan de flores y frutos jóvenes. Puede producir una importante defoliación en soja y daño a las partes tiernas de casi cualquier cultivo. Los adultos pueden controlarse con Glacoxan D-Sist, otro principio activo es Endosulfan. Las larvas pueden controlarse con Teflutrina, Benfuracarb y Carbofuran. Entre los enemigos naturales están la *Celatoria bosque* y *Micoletzkyia vidalae* (Bado, 2.002).

1.V.1.k. Tucuras

Plaga tradicional de las pasturas, las tucuras (Orden *Orthoptera*) consumen tanto las gramíneas como las leguminosas, pero también pueden ser plagas muy dañinas de cultivos jóvenes de maíz, girasol y

soja. Los daños más importantes en estos cultivos ocurren en la etapa de plántula y planta joven. Actualmente se dispone de varios insecticidas autorizados para el control de las tucuras. Una forma de reducir el uso de los insecticidas en el control de estos insectos, es el tratamiento localizado en bordes y cabeceras, donde la plaga, con frecuencia, se encuentra concentrada antes de alcanzar el estado adulto. El uso de cebos tóxicos también es una alternativa para el control de la plaga, siendo recomendado insecticidas de bajo impacto ambiental como Carbaryl.



Figura 1.V.1.2. Adultos de tucuras

1.V.1.1. Trips

Los trips son insectos muy pequeños, de 0,2mm de ancho y de 1 a 1,5mm de largo y poseen alas finas y plumosas, características del orden *Thysanoptera* (familia *Thripidae*). Son frecuentes en trigo, maíz, sorgo, soja y alfalfa. Las hojas afectadas presentan una decoloración marcada por la destrucción de la clorofila. Se observa un aumento de las infestaciones en la soja durante los meses de verano. No se dispone de insecticidas registrados en forma específica para esta plaga en soja por lo que su control suele efectuarse con insecticidas y dosis para su control en algodón con registro en el cultivo de soja.

1.V.1.11. Moluscos

Las babosas, Clase Gasterópodo, orden *Estilomatoferos* e incluyen a numerosas familias como *Limacidae*, *Arionidae* y *Milacidae*, entre otras. Entre las especies de la familia *Limacidae* figura una de las babosas de mayor difusión y peligrosidad como es la “gran babosa gris” que suele alcanzar los 3-3,5cm de longitud. Con una boca provista de dos mandíbulas y una lengua (rábula) dentada, tienen una gran capacidad de consumo y destrucción de plantas jóvenes. Su cuerpo se mantiene húmedo con una secreción viscosa (mucus), que le facilita su desplazamiento. En nuestro país, se han registrado altas infestaciones en lotes con alto contenido de materia orgánica y residuos vegetales en superficie, en cultivos como colza, girasol y soja, que figuran como los más sensibles al daño provocado por babosas.

Enemigos naturales: un nematodo de la familia *Rhabtidae* que presenta un alto potencial de control de la plaga. Gran diversidad de animales vertebrados son citados como consumidores de moluscos (mamíferos, anfibios, reptiles y aves), mientras entre los invertebrados figuran larvas de moscas de la familia *Sciomyzidae* y coleópteros.

El metaldehído es el único producto registrado en nuestro país para el control de moluscos. Actúa por pérdida de coordinación muscular y deshidratación, es ligeramente tóxico para los animales de sangre caliente y como cebo no tiene efecto en los insectos benéficos (Satorre, 2.003)

1. VI. MALEZAS

El gran auge del cultivo de soja, con sus variados e importantes problemas de malezas, trajo aparejado el desarrollo de una serie de herbicidas cuya eficacia, actividad biológica y selectividad fue mejorando con el transcurso del tiempo, constituyéndose en herramientas imprescindibles para manejar el cultivo económicamente.

En los últimos 15 años, la agricultura extensiva, en la región sojera núcleo de nuestro país, ha sufrido profundos cambios tecnológicos, como: 1) implementación masiva de la siembra directa; 2) introducción y rápida adopción de los cultivares de soja tolerantes a glifosato (herbicida); 3) tendencia marcada al monocultivo de soja empleando principalmente cultivares tolerantes a glifosato y 4) sustitución de los herbicidas tradicionales por el glifosato, favorecido esto por un precio relativamente bajo.

La acción conjunta de estos cuatro factores determinó que se ejerza una importante presión de selección sobre la comunidad de malezas, dirigida fundamentalmente a especies adaptadas al no laboreo y relativamente tolerantes al glifosato, lo cual en ciertos casos generó cambios en la abundancia relativa de especies de malezas que antes pasaban desapercibidas.

Cuando utilizamos un herbicida, normalmente vemos que algunas especies son bien controladas y otras no tanto o nada; estas últimas podrán prosperar con ventaja frente a la/las especies más susceptibles y, eventualmente, si se continúa empleando el mismo principio activo

con elevada frecuencia y a esa dosis, podrían llegar a dominar dentro de la comunidad. Dentro de este grupo de especies, algunas de las que podemos citar son las siguientes (**tabla 1.VI.1**).

Tabla 1.VI.1. Algunas especies de malezas sospechosas de ser tolerantes a dosis estándar de glifosato (Mortimer, 2.003).

Especie	Nombre común	Biología
<i>Parietaria debilis</i>	Parietaria, Ocucha	Anual -Invierno-Primavera
<i>Petunia axillaris</i>	Petunia, Coroyuyo	Perenne -Primavera-Verano
<i>Verbena litoralis</i>	Verbena	Perenne -Primavera-Verano
<i>Verbena bonariensis</i>	Verbena	Perenne -Primavera-Verano
<i>Hybanthus parviflorus</i>	Violetilla	Perenne -Invierno-Primavera
<i>Iresine</i>	Diffusa	Perenne -Primavera-Verano
<i>Commelina erecta</i>	Flor de Sta. Lucía	Perenne -Primavera-Verano
<i>Ipomoea</i> spp.	Bejucos	Perenne, algunas anuales-Primavera-Verano
<i>Oenothera indecora</i>	Flor de la noche	Anual -Primavera estival

Las malezas más importantes en el cultivo de soja en Argentina se pueden observar en las figuras **1.VI.1** y **1.VI.2**. La mayoría de las mismas son controladas con dosis estándar de glifosato. La lista de especies de malezas incluye plantas dicotiledóneas y monocotiledóneas, así como especies anuales y perennes.



Echinochloa crus-galli
(Capin arroz)



Bromus unioloides y *B. catharticus*
(Cebadilla criolla)



Setaria geniculata
(Cola de zorro)



Setaria verticillata
(Cola de zorro)



Setaria viridis
(Cola de zorro)



Digitaria sanguinalis
(Pasto de cuaresma)



Polygonum convulvulus
(Enredadera)



Amaranthus retroflexus
(Yuyo colorado)

Fuente: Baigorri y col., 2004

Figura 1.VI.1. Principales malezas del cultivo de soja en Argentina.



Cyperus esculentus
(Capin arroz)



Eichornia crassipes
(Camalote)



Richardia brasiliensis
(Sunchillo o yerba del sapo)



Cynodon dactylon
(Gramón)



Ipomoea purpurea
(Campanilla)



Petunia axillaris
(Coroyuyo)



Polygonum convulvulus
(Enredadera)



Verbena gracilescens
(Verbena)

Fuente: Baigorri y col., 2004

Figura 1.VI.2. Principales malezas del cultivo de soja en Argentina.

En los últimos años en Tucumán, Córdoba y Santa Fe aparecieron en cultivos de soja, focos de invasión de sorgo de Alepo (*Sorghum halepense*), que al igual que los maíces guachos son resistentes al glifosato. Para su control la única solución que hay es la aplicación de un producto que controla gramíneas de hoja ancha dentro de la soja (Rango GR®: único herbicida sistémico registrado en Senasa para control de maíz guacho), que se puede aplicar con el glifosato o en forma secuencial (Comunicación personal Ing. Agr. Antonio Wojszko). Esta novedad, permite a los productores que hayan sembrado maíces resistentes a glifosato, conocidos como "Maíces RR", continuar en la próxima temporada con siembras de otros cultivos de hoja ancha como soja resistente a glifosato (sojas RR), y luego enfrentar eficazmente el control de las plantas de maíz que aparecen de manera indeseable como malezas, y que no podrán ser controladas con las aplicaciones regulares de glifosato.



Figura 1.VI.3. Sorgo de Alepo (Baigorri y col., 2.004)

1.VII. AGROQUÍMICOS

1.VII.1. Insecticidas

1.VII.1.1. Fenitrothion

El fenitrothion es un pesticida organofosforado de uso general. El nombre químico es O, O- dimetil, O-4-nitro-m-toluen fosforodiodato, O,O-dimetil O-(3-metil-4-nitrofenil) fosforodiodato, O,O- dimetil O- (3-metil-4nitrofenil) tiofosfato (**figura 1.VII.1.1**).

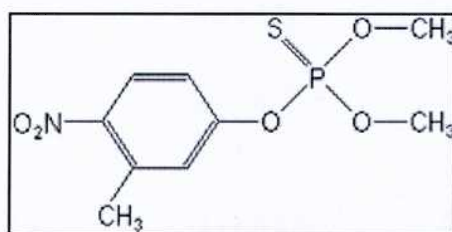


Figura 1.VII.1.1 Fórmula química del fenitrothion (Exttoxnet, 1.996)

Es un insecticida y acaricida selectivo con bajas propiedades ovicidas. Es considerado un inhibidor de la colinesterasa. Es efectivo contra una serie grande de plagas masticadoras, barrenadoras y chupadoras, (orugas, barrenador del brote, escarabajos, gorgojos). Puede ser usado también como spray residual de contacto para moscas, mosquitos y cucarachas y como programa de salud pública. Su efectividad como un agente vector de control para la malaria es confirmada por la Organización Mundial de la Salud.

Fenitrothion es no sistemático y no persistente. Es menos tóxico que el parathion con un rango de actividad insecticida y estructura que es muy similar. Viene en polvo, en concentrado emulsificado, gránulos, spray líquido basado en aceite, polvo hidrosoluble. Se presenta en concentrado del 95%, 50% de concentrado emulsificado, 40% y 50% de

polvo hidrosoluble y 2%, 2,5%, 3% y 5% de cenizas. Es compatible con otros insecticidas neutrales.

1.VII.1.2. Cypermethrin

Cypermethrin es un insecticida piretroide sintético usado para controlar insectos en almacenes, depósitos, edificios industriales, casas, edificios de departamentos, jardines, laboratorios, en barcos, colectivos, camiones y aeropuertos. Es además usado en áreas que no están en contacto con alimentos como ser escuelas, enfermerías, hospitales, restaurantes, hoteles y como repelente para caballos. Técnicamente cypermethrin (**figura 1.VII.1.2**) es una mezcla de ocho diferentes isómeros, cada una de las cuales puede tener sus propias propiedades químicas y biológicas. Cypermethrin es levemente estable y se puede conseguir como un concentrado emulsificable o como un polvo rehumedecible.

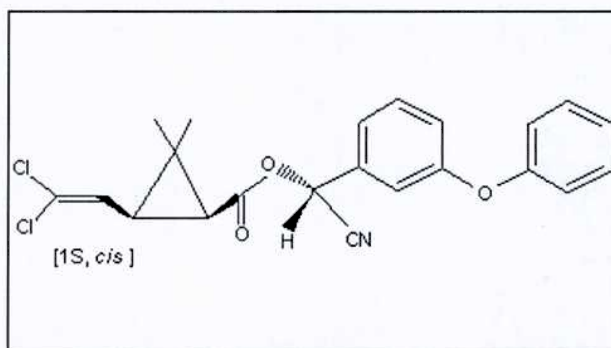


Figura 1.VII.1.2. Fórmula química de Cypermethrin (Extoxnet, 1.996)

1.VII.1.3. Chlorpirifos

Chlorpirifos es un insecticida organofosforado de gran espectro. El nombre químico es O,O- dietil O-3,5,6-tricloro -2-piridil

fosforodiodato (**figura 1.VII.1.3**). Originalmente utilizado para matar mosquitos, ahora no se usa más para eso. Chlorpirifos es efectivo en el control de orugas, cucarachas, larvas, escarabajos, moscas, termitas, hormigas y piojos. Es un insecticida que se usa para granos, algodón, frutas, nueces, campos y cosechas de vegetales, como así también en céspedes y plantas ornamentales. Es también utilizado para uso directo en ovejas y burros, para tratamientos en caballos, criadero de perros, residencias domésticas, edificios de granjas, bins de almacenamiento, y establecimientos comerciales. Chlorpirifos actúa en las plagas primariamente como veneno de contacto como puede ser envenenamiento estomacal. Es disponible como gránulos, polvo rehumedecible, y polvo concentrado emulsificable. Chlorpirifos técnicamente es un sólido de color ambar a blanco cristalino con olor sulfuroso.

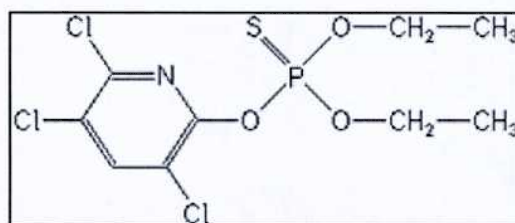


Figura 1.VII.1.3. Fórmula química del chlorpirifos (Exttoxnet, 1.996)

1. VII.1.4. Endosulfan

Endosulfan es un insecticida y acaricida hidrocarbónico clorinado del subgrupo ciclodino que actúa como un veneno de contacto en un gran rango de insectos y ácaros. También se usa como un preservador de la madera, es utilizado primariamente en una amplia variedad de cultivos incluyendo té, café, frutas, vegetales, arroz, cereales, maíz, sorgo, y otros granos. Formulaciones de endosulfan incluyen

concentrados emulsificables, polvo rehumedecible, líquido de volumen ultra-bajo (ULV), y tabletas ahumadas. Es compatible con otros pesticidas y puede encontrarse en formulaciones, pero no es compatible con materiales alcalinos. Técnicamente endosulfan está hecho de una mezcla de dos formas (isoméricas) moleculares de endosulfan, alfa y beta isómeros (**figura 1.VII.1.4**).

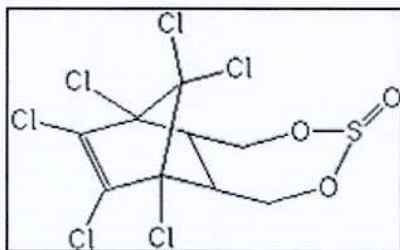


Figura 1.VII.1.4. Fórmula química del endosulfan (Extoxnet, 1.996)

El endosulfan es un disruptor endocrino y es altamente tóxico en forma aguda en mamíferos. Ha sido prohibido en más de 50 países, que incluyen la Unión Europea y varias naciones de Asia y Africa occidental, sin embargo aún se usa en muchos otros países como India, Brasil, y Australia. A causa de su alta toxicidad y su alto potencial de bioacumulación y contaminación ambiental, una prohibición global sobre el uso y fabricación de endosulfan está siendo considerada bajo el Convenio de Estocolmo (Earth Negotiations Bulletin, 2.008). En Agosto del 2.009, Bayer CropScience, la rama agroquímica de Bayer, informó que planifica terminar las ventas de endosulfan para fines de 2.010 en todos los países donde todavía la misma se encuentra legalmente disponible. Bayer dispuso no comercializar este insecticida en Argentina, a partir de finales del año 2.009. Se lo utilizaba en forma masiva en soja, algodón, girasol, maíz y tabaco.

1.VII.2. Herbicida

1.VII.2.1. Glifosato

El glifosato (N-(fosfonometil) glicina) $C_3H_8NO_5P$, es un herbicida de amplio espectro, no selectivo, utilizado para eliminar malezas indeseables (pastos anuales y perennes, hierbas de hoja ancha y especies leñosas) en ambientes agrícolas, forestales y paisajísticos (figura 1.VII.2.1).

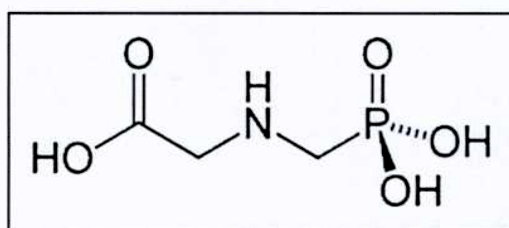


Figura 1.VII.2.1. Fórmula química del glifosato

El glifosato es absorbido por las hojas y no por las raíces y ejerce su acción herbicida a través de la inhibición de una enzima, la enol-piruvil-shikimato-fosfato-sintetasa (EPSPS), impidiendo así que las plantas elaboren tres aminoácidos aromáticos esenciales (fenilalanina, tirosina y triptófano) para su crecimiento y supervivencia. Debido a que la ruta metabólica del ácido shikímico no existe en animales, la toxicidad aguda del glifosato es baja.

El glifosato es el principio activo del herbicida con nombre comercial Roundup de Monsanto. Monsanto patentó el evento de resistencia al glifosato con transgénesis con el género *Agrobacterium*; incorporando así a la planta de soja la resistencia al glifosato. Hasta el advenimiento de los cultivos transgénicos tolerantes al glifosato, el límite máximo de glifosato residual en soja establecido en EE.UU. y

Europa era de 0,1mg/kg. Pero a partir de 1.996, estos países lo elevaron a 20mg/kg, un incremento de 200 veces el límite anterior. Semejante aumento responde a que las empresas productoras de glifosato están solicitando permisos para que se apruebe la presencia de mayores concentraciones de glifosato en alimentos derivados de cultivos transgénicos.

1.VII.3. Fungicidas

Los fungicidas son sustancias químicas que, aplicadas a las plantas, protegen de la penetración y/o posterior desarrollo de hongos patógenos en sus tejidos.

La palabra fungicida puede sugerir que estos compuestos químicos matan todos los tipos de hongos con mayor o menor selectividad. Sin embargo, eso no es verdad, porque todavía no se dispone de un único fungicida que mate todos los hongos indistintamente de sus clasificaciones taxonómicas.

Existen fungicidas inhibidores de la síntesis de esteroides (ISE) (manchas foliares, oidios, royas y algunos para fusariosis). Los esteroides son componentes funcionales en la protección y el mantenimiento de la integridad de la membrana. Los lípidos son los principales componentes estructurales de la membrana plasmática, además de las proteínas. El principal lípido de la membrana plasmática de los hongos es el ergosterol. La síntesis de este compuesto en los hongos se realiza a través de la acción catalítica del Acetil-CoA. Sin embargo, los hongos que causan enfermedades del tipo oidios y royas no presentan ergosterol. En los oidios el principal esteroide es el 24-metilcolesterol. Los fungicidas ISE actúan en la formación y en la selectividad de la membrana plasmática. El mecanismo de acción se debe a la dimetilación en la posición 24 del metileno dihidrosterol, precursores del esteroide. Un gran número de fungicidas presenta este mecanismo de acción (Carmona, 2.005): Triazoles (bitertanol, bromuconazol, ciproconazol, difenoconazol, epoxiconazol, flutriafol, fluquinconazol,

hexaconazol, metconazol, propiconazol, tebuconazol, tetraconazol, triadimefom, triadimenol, tricloclazol, triticonazol), imidazoles (imazalil, procloraz), pirimidinas (fenarimol) y piperazinas (triforina).

De acuerdo a su composición química se clasifican en (Báez y col., 2.009):

-TRIAZOLES (**figura 1.VII.3**): Son curativos (cyproconazol; tebuconazol; difenoconazol; epoxiconazol; propiconazol).

-ESTROBIRULINAS (**figura 1.VII.3**): Son preventivos (azoxistrobina; pyraclostrobin; trifloxystrobin).

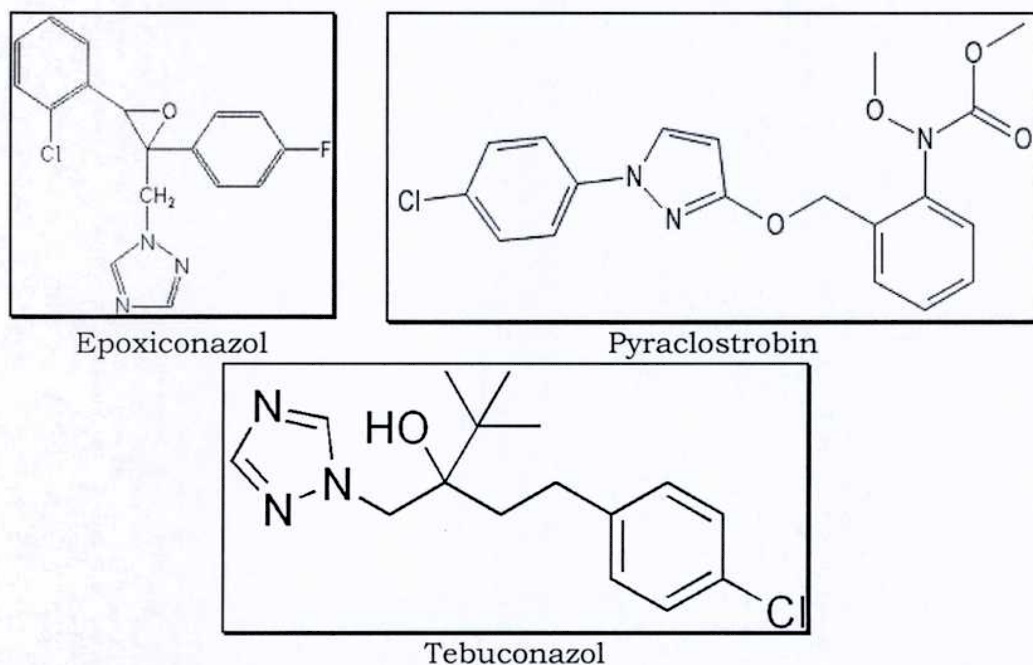


Figura 1.VII.3. Fórmulas químicas de algunos fungicidas empleados en el cultivo de soja.

1.VII. 3. 1. Folicur

Folicur (Principio activo: Tebuconazol) es un fungicida sistémico que se caracteriza por tener una rápida y eficiente acción curativa sobre todo el complejo de enfermedades foliares, tanto sobre las manchas como royas y oídio, sumado a una muy buena actividad preventiva y

erradicante (Bayer, 2.009). Folicur puede aplicarse tanto con equipos terrestres como aéreos. Ventajas:

1. Posee propiedades toxicológicas favorables para el usuario y el medio ambiente.
2. Efectivo modo de acción y amplio espectro.
3. Fácil manipulación, dosificación y tratamiento.
4. Dosis de aplicación baja por cada 100kg de semilla.
5. Adherencia al grano muy adecuado.
6. Bajo costo por hectárea.

1.VII.3.2. Opera

Opera es un fungicida sistémico para el control de enfermedades foliares en el cultivo de trigo, para el control de EFC y RAS en el cultivo de soja. Opera es un fungicida de efecto preventivo, curativo y erradicante. La base del control de Opera está en la combinación de sus principios activos, pyraclostrobin + epoxiconazol. Pyraclostrobin: es una estrobilurina de última generación que posee rapidez de acción prolongada, eficacia y amplio espectro de control sobre toda clase de patógenos fúngicos y además produce efectos adicionales sobre el rendimiento debido a sus acciones fisiológicas en la planta que intervienen en el proceso de formación de los granos y en el rendimiento.

Opera contiene también epoxiconazol, un triazol de la familia de los inhibidores del ergosterol (IBE) con acción sistémica y de larga

residualidad, la combinación permite disminuir el riesgo de desarrollo de resistencia de los fungicidas con igual modo de acción que las estrobilurinas y contribuye al control fúngico.

Opera se utiliza para el control de EFC como: Mancha marrón, Mancha púrpura, Antracnosis, Mancha ojo de rana, Tizón de la vaina y el tallo, Mancha anillada, Mildew (BASF, 2009).

La dosis de aplicación de Opera es de 0,5L/ha, aplicada desde R3 (inicio de formación de vainas) hasta R4-5 (50% llenado de granos).

Los mayores controles de las EFC y de rendimientos se logran aplicando Opera en R3. Para RAS la dosis de aplicación de Opera es de 0,5L/ha. Aplicada preventivamente en estadio del cultivo R3-4 (finales de floración, inicio de llenado de granos). De observarse síntomas de la enfermedad, deben realizarse aplicaciones al inicio de floración (R1).

1.VII.3.3. Sphere

Sphere es un nuevo fungicida sistémico compuesto por Trifloxistrobin (estrobirulina) y Cyproconazol (triazol). Ambos forman una perfecta combinación para el control total de hongos. El Trifloxistrobin, de última generación de estrobirulinas, evita la germinación y el desarrollo de las esporas. Tiene un potente efecto preventivo, con un excelente poder residual, gracias a la alta afinidad del producto con las ceras de la hoja (su reservorio natural). El triazol detiene el desarrollo del hongo, aporta control inicial, una acción curativa adicional y evita la aparición de cepas resistentes (Bayer, 2009). Ventajas:

1. Con sólo una aplicación, tiene una residualidad de hasta 60 días.
2. Amplio espectro de control y alta eficacia sobre royas, septorias, mancha amarilla y oídio.
3. Altísima respuesta en rendimiento y calidad, comparado a los fungicidas existentes, favoreciendo por mantener por más tiempo un mayor porcentaje de área verde saludable del cultivo.
4. Acción preventiva (trifloxistrobin) y sistémica curativa (triazol).
5. Excelente compatibilidad con el cultivo.

1.VII.3.4. Rundle

Es el único fungicida para soja que mezcla una estrobilurina sistémica y un bencimidazol. El metominostrobin es el único con acción sistémica multidireccional dentro del grupo de las estrobilurinas en soja es preventivo en roya y curativo en EFC. Está compuesto por 43% de Tebuconazol, éste es un triazol sistémico-preventivo, curativo ideal y de menor costo/dosis. En soja controla RAS y EFC (Insuagro, 2.009).

1.VIII- Hongos toxicogénicos presentes en las semillas de soja

Durante el desarrollo a campo del cultivo de la soja y en las etapas posteriores de almacenamiento y transporte, pueden crecer y desarrollarse especies fúngicas que contaminan naturalmente las semillas, además si se dan condiciones óptimas de temperatura y de humedad relativa (actividad de agua), las cepas potencialmente toxicogénicas de esa micoflora contaminante podrían producir micotoxinas.

Las micotoxinas son un grupo químico muy diverso de metabolitos secundarios producidos por mohos que contaminan los granos y semillas. Si éstos son consumidos, dichos metabolitos tóxicos podrían ocasionar trastornos en la sanidad de seres humanos y animales. Esto se traduce en importantes pérdidas económicas por su impacto en la salud, una menor productividad animal y la dificultad para comercializar estos productos en el mercado nacional e internacional, convirtiéndose en una barrera importante para acceder a mercados como la Comunidad Europea y Asia, que son los principales importadores de soja.

Las principales especies toxicogénicas pertenecen a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Alternaria*. Estos géneros, entre otros, fueron encontrados en soja en diferentes partes del mundo (Roy y col., 2.001; Villaroel y col., 2.004). En Argentina diferentes estudios (Vaamonde y col., 1.987; Boca y col., 2.003; Cabrera y col., 2.004; Frusteri y col. 2.006; Ruberti y Scandiani, 2.006; Romero y col., 2.006; Broggi y col., 2.006; Zelaya y col., 2006 a y b) han detectado la

presencia de estos cuatro géneros fúngicos productores de toxinas en la soja (**tabla I.VIII.1**). También se ha reportado la capacidad de producción de zearalenona en especies de *Fusarium* aisladas de soja (Vaamonde y col., 1.987) y la presencia de aflatoxinas (Fernández Pinto y col., 1.991) y de deoxinivalenol, toxina T-2 y zearalenona en soja cosechada en las provincias de Buenos Aires, Santa Fe y Tucumán (López, 2.006; González y col., 2.009). En 1.985, Richardson y colaboradores, determinaron la formación *in Vitro* en semillas de soja, de toxina HT-2, toxina T-2, T-2- tetraol, neosolaniol y zearalenona. En EE.UU. en soja dañada por mohos, Jacobsen y col. (1.995) detectaron zearalenona, zearalenol, deoxinivalenol y diacetoxiscirpenol. En un estudio realizado en Alemania en diferentes alimentos a base de soja, se observó en el 24% de los mismos, la presencia de tricotecenos del tipo A y B. (Schollenberger y col., 2.007).

La literatura sobre la influencia de los agroquímicos usados en soja sobre la micoflora contaminante, y específicamente sobre las especies potencialmente toxicogénicas, es también escasa. En el caso de la influencia de la aplicación de insecticidas sobre los mohos y la producción de micotoxinas, existen estudios *in vitro* y a campo en trigo, maíz y girasol que demuestran efectos sobre la micoflora (especies de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Alternaria*), favoreciendo o no la contaminación, y normalmente una disminución de la producción de micotoxinas (Vandegraft y col., 1.973 a y b; Berisford y Ayres, 1.976; Draughon y Ayres, 1.976, 1.980, 1.981; Draughon y col., 1.983; Dalcero y col., 1.996).

Tabla I.VIII.1. Toxinas capaces de ser producidas por las especies fúngicas aisladas de las semillas de soja en Argentina

Especie fúngica	Toxinas más importantes	Otras toxinas
<i>Alternaria alternata</i>	Acido tenuazónico (AT), alternariol (AOH), alternariol mono metil éter (AME)	altenueno (AE), altertoxin I y II
<i>Aspergillus candidus</i>	Acido kójico	
<i>Aspergillus flavus</i>	Acido ciclopiazónico, aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 aflatoxinas M1 y M2	
<i>Aspergillus niger</i>	Ocratoxina A, malforminas	
<i>Aspergillus niveus</i>	Posiblemente citrinina	
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Ocratoxina A, B y C	
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Aflatoxinas B y G	
<i>Aspergillus tamarii</i>	Acido ciclopiazónico	
<i>Aspergillus versicolor</i>	Esterigmatocistina	
<i>Aspergillus wentii</i>		Emodina
<i>Fusarium acuminatum</i>	Butenólido, tricotecenos tipo A	
<i>Fusarium avenaceum</i>	Moniliformina (MON)	Fusarina C, enniantinas
<i>Fusarium crookwellense</i>	Zearalenona (ZEA), tricotecenos tipo B, fusarina C	
<i>Fusarium culmorum</i>	ZEA, tricotecenos tipo B, fusarina C, butenólido	
<i>Fusarium equiseti</i>	ZEA, Toxina T2 (T2), toxina HT2 (HT2), neosolaniol (NEO), Deoxinivalenol (DON), 15-ADON, nivalenol (NIV)	fusarenona X (FX), equisetina, enniatina, culmorina, clamidosporol, butenólido, zearalenona 4 sulfato, fusarocromanona,
<i>Fusarium graminearum</i>	DON y sus derivados 3 y 15 acetildeoxinivalenol (3 y 15-ADON), ZEA	NIV, T2, HT2, diacetoxiscirpenol (DAS), NEO, butenólido, culmorin, sambucinol, calonectrina, fusarinas
<i>Fusarium heterosporum</i>	T2	
<i>Fusarium lateritium</i>	Enniantina	
<i>Fusarium poae</i>	T2, nivalenol, HT2-toxina, monoacetoxiscirpenol, DAS, DON, 15-ADON	Fusarina C, FX
<i>Fusarium oxysporum</i>	MON	ZEA, wortmannina, NIV, fusarenona X, sambutoxina
<i>Fusarium sambucinum</i>	DAS, ZEA y derivados	
<i>Fusarium semitectum</i>	ZEA, DAS, NIV, T2, NEO	FX, equisetina, beauvericina
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	ZEA, T2, HT2-toxina, T-2 triol, T-2 tetraol	
<i>Fusarium subglutinans</i>	MON	Fumonisinina B1 (FB ₁)
<i>Fusarium verticillioides</i>	Fumonisininas B ₁ , B ₂ , B ₃ y B ₄ (FB ₁ , FB ₂ , FB ₃ y FB ₄)	Fusarina C, A, D, E y F, ácido fusárico
<i>Fusarium proliferatum</i>	Fumonisininas B ₁ , B ₂ , y B ₃ , moniliformina, ácido fusárico.	
<i>Penicillium citrinum</i>	Citrinina	
<i>Penicillium funiculosum</i>	Patulina	

Sobre la influencia de la aplicación de glifosato en la contaminación fúngica y la producción de micotoxinas, Kremer y Means (2.009) observaron, en ensayos de campo, que la colonización de la rizosfera de soja y maíz con especies de *Fusarium* aumentaba después de la aplicación de glifosato. En otros ensayos a campo en trigo y cebada llevados a cabo en Canadá (Fernández y col., 2.009) se vió un aumento de la incidencia de fusariosis (tizón de la espiga) después de la aplicación de glifosato. También se observó, en invernadero y a campo en Argentina y Brasil, que la aplicación de glifosato en soja RR sumaba al efecto herbicida una acción antifúngica sobre la roya asiática (Feng y col., 2.008).

Con respecto al efecto de la aplicación de fungicidas sobre la micoflora contaminante y la producción de micotoxinas en la literatura hay datos que indican que estos agroquímicos actuarían disminuyendo la contaminación fúngica pero dependiendo del fungicida considerado la producción de micotoxinas se verá disminuía o promovida. La poca información sobre este tema se refiere a cultivos como tomate, trigo, cebada y maíz (El-Morshedy y col., 1.995; D'Mello y col., 1.998; Crome y col., 2.002; Edwards, 2.004; Hýsek y col., 2.005; Pirgozliev y col., 2.008; Folcher y col., 2.008; Blandino y Reyneri, 2.009).

2. OBJETIVOS

La agricultura argentina ha experimentado cambios muy significativos. La producción agrícola aumentó cerca del 66%, el área sembrada lo hizo en cerca del 35% y el escenario agrícola del país fue dominado por la expansión del cultivo de soja. Esto fue acompañado por la introducción de nuevas tecnologías y conceptos para el diseño de los planteos productivos de los cultivos. Nuevas tecnologías, tales como la siembra directa, la fertilización o la incorporación de variedades e híbridos transgénicos pueden ser considerados como contribuciones exitosas hacia la rentabilidad de las empresas, la estabilidad y sustentabilidad de los sistemas.

Sin embargo, la tendencia al monocultivo en inmensas áreas productoras, unida a las técnicas de conservación del suelo (siembra directa o reducida) favorecen al desarrollo de enfermedades, ataque de plagas e invasión de malezas. La resistencia genética es una de las herramientas más económicas para la solución del problema de enfermedades, pero no todas las enfermedades tienen solución desde el punto de vista genético.

Aquellas enfermedades relacionadas con la producción de mohos y sus toxinas, provocan daños materiales importantes involucrando pérdidas económicas en la producción, como así también efectos deletéreos que se reflejarían en la salud humana y animal, si las semillas están destinadas a la elaboración de alimentos preparados, alimentos balanceados, productos lácteos, etc.

Las micotoxinas son un grupo químico diverso de metabolitos secundarios producidos por una gran variedad de hongos que contaminan los granos y semillas. Las principales especies micotoxicogénicas pertenecen a los géneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*.

Las micotoxinas encontradas en soja destinada al consumo humano son: ocratoxina A (OTA), aflatoxinas (AF), rubratoxina B, deoxinivalenol (DON), diacetoxyscirpenol (DAS), Fumonisina B₁ (FB₁), Zearalenona (ZEA), Nivalenol, T2 tetraol (Weidenbörner, 2.007a). Las micotoxinas encontradas en soja para alimentos de consumo animal son: OTA, AF, Rubratoxina B, DON, DAS, FB₁ y ZEA (Weidenbörner, 2.007b).

En Argentina diferentes estudios han mencionado la presencia de estos géneros fúngicos en la soja. Además se ha reportado la capacidad de producción de zearalenona en especies de *Fusarium* aisladas de soja y la presencia de aflatoxinas, DON, toxina T-2 y ZEA en soja cosechada en el Sur de la provincia de Santa Fe (Zelaya, 2.006; Pacin, 2.009).

Los estudios realizados hasta el presente sobre la presencia de mohos potencialmente productores de micotoxinas en la soja cosechada en Argentina y la creciente importancia que este cultivo ha adquirido para la economía del país, generó un área de investigaciones bastante amplio en este tema que merece una mayor atención en la República Argentina.

Diversos factores bióticos pueden influir negativamente en la producción y cultivo de la soja, como las plagas de insectos

(escarabajos, isocas y chinches), las enfermedades de origen fúngico y la presencia de malezas produciendo pérdidas anuales de importancia.

El propósito de la aplicación de los agroquímicos (insecticidas, fungicidas y herbicidas) es controlar la proliferación de plagas, enfermedades y malezas con las dosis mínimas adecuadas, en el estado fenológico óptimo del cultivo para lograr un control exitoso. Es muy escasa la información disponible acerca de los efectos colaterales de los tratamientos de los agroquímicos en la micoflora endógena de la soja especialmente en especies con potencial toxicogénico.

El objetivo de este estudio ha sido identificar la micoflora endógena presente en semillas de soja producida en ensayos de rendimiento con diferentes tratamientos de agroquímicos: Fungicidas (Rundle 600+ 500; SSF-126 + MKH-913 + N. Oleo*300 y 175; Sphere 300+175; Folicur y Opera), un herbicida (glifosato) e insecticidas (chlorpyrifos + cypermethrin; fenitrothion y endosulfan), con el fin de analizar la influencia de estos tratamientos sobre la micoflora total y en particular sobre las especies potencialmente toxicogénicas.

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Muestreo y diseño experimental

Las muestras de soja de la variedad Don Mario 4800, fueron colectadas en forma representativa en ensayos de agroquímicos que fueron conducidos durante la campaña sojera 2.005/2.006 en distintas Estaciones Experimentales de INTA. Las dosis ensayadas fueron las normalmente utilizadas por los productores sojeros de la zona. La recolección de muestras se realizó en zig-zag, sin tomar muestras de las hileras exteriores para no tener efecto de borde.

3. I. 1. Muestreo para insecticidas

Para el ensayo con insecticidas se colectaron 63 muestras, incluyendo los testigos sin tratamiento. El experimento se llevó a cabo en la Estación Experimental Manfredi, provincia de Córdoba en la Región Pampeana Norte II-1/3 (**figura 3.I.a**), perteneciente al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Este ensayo fue llevado a cabo en tres bloques con 2 niveles de dosis para cada tratamiento (endosulfan: 1.200 cc/ha y 1.500 cc/ha; chlorpyrifos + cypermethrin: 550 cc/ha y 750 cc/ha y fenitrothion: 400 cc/ha y 600 cc/ha).

A pesar de estar en la actualidad, prohibido su empleo en Argentina, se analizó el efecto del endosulfan debido a que en el momento de realización de este ensayo (año 2.006) era de uso corriente en el cultivo de soja.

3. I. 2. Muestreo para herbicida

En el ensayo para el herbicida (glifosato) se recolectaron 60 muestras, incluyendo los testigos sin tratamiento. El experimento se llevó a cabo en la Estación Experimental Manfredi, provincia de Córdoba en la Región Pampeana Norte II-1/3 (**figura 3.I.a**), perteneciente al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Se aplicaron dosis variables (entre 1,0 y 15,0 l/ha) de glifosato.

3. I. 3. Muestreo para fungicidas

Para los ensayos de fungicidas se recolectaron 44 muestras (incluyendo los testigos sin tratamiento) en la provincia de Entre Ríos y en la provincia de Chaco. Uno de los experimentos se llevó a cabo en la Estación Experimental de Paraná, Entre Ríos (24 muestras) en la Región Pampeana Norte II-7/8 (**figura 3.I.a**). Este ensayo fue llevado a cabo en tres bloques con 3 fungicidas: Rundle 600+500; SSF-126 + MKH-913 + N. Oleo*300 y 175; Sphere 300 300+175).

El otro ensayo de fungicidas (20 muestras) se realizó en la Estación Experimental de Roque Sáenz Peña, Chaco en la Región Norte I-2 (**figura 3.I.a**) con 2 fungicidas: Tebuconazol 25% (Folicur) y Pyraclostrobin 13,3% + epoxiconazol 5% (Opera).

En todos los casos, una vez tomadas, submuestras de 200g cada una de las muestras fueron inmediatamente enviadas para su análisis micológico.

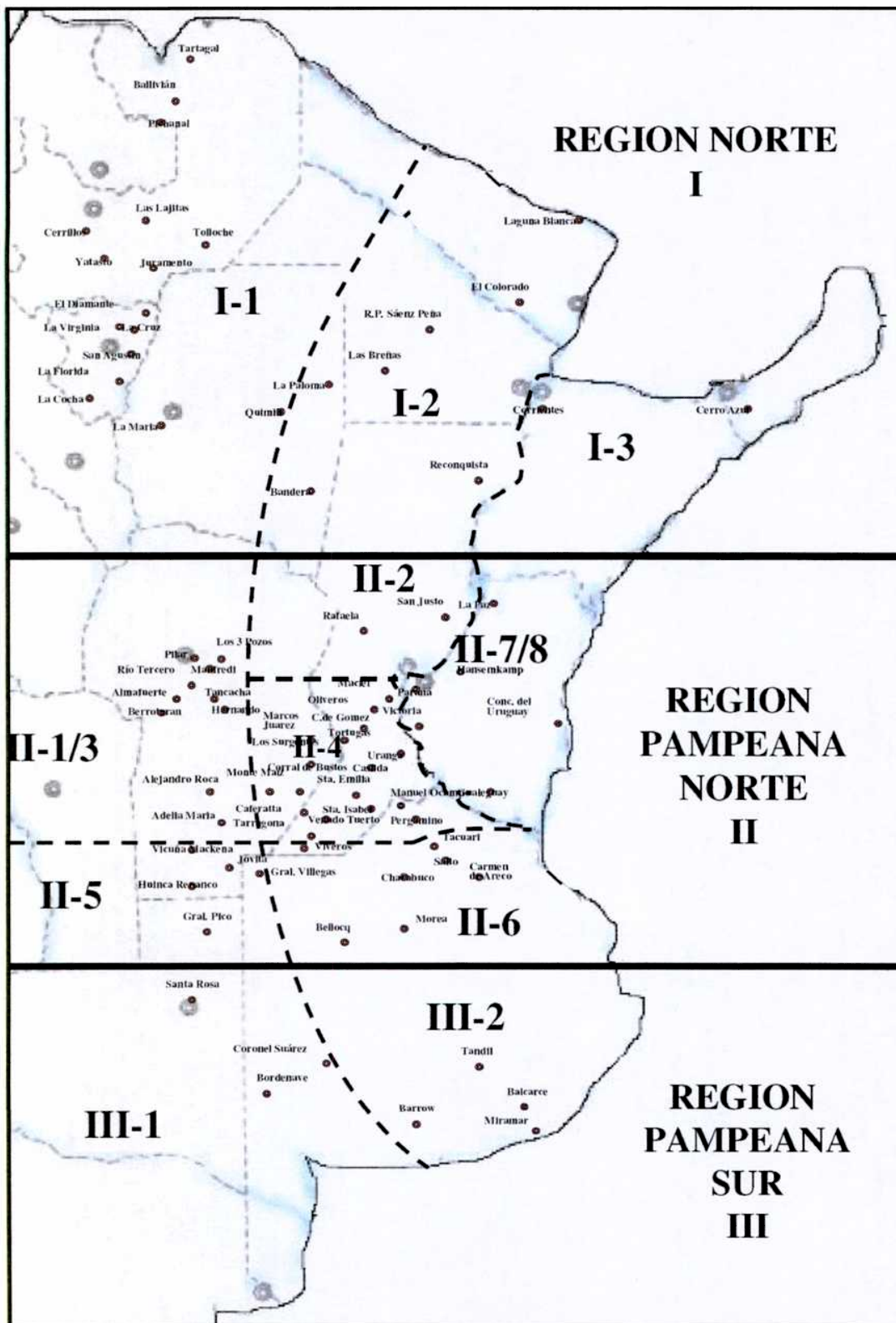


Figura 3.I.a Ubicación geográfica de las. estaciones experimentales del INTA

3.II. Micoflora

3.II.1. Aislamiento de la micoflora contaminante

3.II.1.a. Equipos y medios de cultivo para el aislamiento

- **Agar extracto de levadura-glucosa-cloranfenicol (YGCA):** Biokar

Diagnostic BK007

Composición (g/l de agua destilada)

Extracto de levadura	5,0
D (+) - glucosa	20,0
Cloranfenicol	0,1
Agar-agar	14,9

pH: 6,6 ± 0,1

- **Agar papa glucosa (PDA):** Biokar Diagnostic BK 095

Composición (g/l de agua destilada)

Infusión de papa (a partir de 200 g de papa)	4,0
D (+) - glucosa	20,0
Agar-agar	15,0

pH: 5,6 ± 0,1

- Estufas Modelo FS900 a 25°C ± 1°C.
- Cabina de Seguridad Biológica Clase II, con doble filtro HEPA, marca Tecnoequipar (Argentina).

3.II.1.b. Procedimiento para el aislamiento de la micoflora contaminante

Micoflora interna: De cada muestra se tomaron al azar 100 semillas, las cuales fueron desinfectadas superficialmente sumergiéndolas en una solución acuosa al 5 % de hipoclorito de sodio comercial por un minuto, se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril. En cabina de seguridad biológica tipo II, las semillas escurridas se dispusieron en 5 cajas de Petri con YGCA estériles, en cada una de las cuales se colocaron 20 semillas. Las placas fueron incubadas en oscuridad a 25°C durante 7 días. Las colonias de los hongos que desarrollaron **(figura 3.II.b.)** se pasaron a tubos con PDA inclinados, para su posterior identificación (aislamientos primarios). Se incubaron a 25°C durante 7 días.



Figura 3.II.b. Semillas de soja incubadas en YGCA a 25°C durante 7 días

3.III.1. Identificación de la micoflora contaminante

3.III.1.a. Equipos y medios para la identificación

- **Agar Czapek-Dox (CDA):** Merck art. 5460

Composición (g/l de agua destilada):

Sacarosa	30,0
NaNO ₃	3,0
KCl	0,5
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01
K ₂ HPO ₄	1,0
Agar-agar	13,0
pH: 7,3 ± 0,1	

- **Agar hoja de clavel (CLA)**

Composición (g/l de agua destilada):

Agar-agar (Merck art.1613)	15,0
----------------------------	------

Hojas jóvenes de clavel, sanas y libres de pesticidas

(*Dianthus caryophyllus*) en fragmentos de 5 x 5 mm.

- **Agar hoja de clavel con cloruro de potasio (CLA-KCl)**

Composición (g/l de agua destilada):

Agar-agar (Merck art.1.613)	15,0
KCl (Merck art. 4.936)	8,0

- **Agar Czapek-extracto de levadura (CYA)**

Composición (g/l de agua destilada):

KH ₂ PO ₄ (Merck art. 4873)	1,0
Concentrado de Czapek	1,0 ml
Extracto de levadura en polvo (Merck art. 3753)	5,0
Sacarosa (Merck art. 7651)	30,0
Agar-agar (Merck art. 1613)	20,0

- **Concentrado de Czapek**

Composición (g/100 ml de agua destilada):

NaNO ₃ (Merck art. 6537)	30,0
KCl (Merck art. 4936)	5,0
MgSO ₄ ·7H ₂ O (Merck art. 5886)	5,0
FeSO ₄ ·7H ₂ O (Merck art. 3965)	0,1

- **Agar extracto de malta (MEA): Merck art. 5398**

Composición (g/l de agua destilada):

Extracto de malta	30,0
Peptona de harina de soja	3,0
Agar-Agar	15,0
pH: 5,6 ± 0,1	

- **Agar 25% glicerol-nitrato (G25N)**

Composición (g/l de agua destilada):

K ₂ HPO ₄ (Merck art. 5104)	0,75
---	------

Concentrado de Czapek	7,5 ml
Extracto de levadura (Merck art. 3753)	3,7
Glicerol p.a. (Merck art. 4094)	250,0
Agar-agar (Merck art. 1613)	12,0

- **Medio semisólido (SM)**

Composición (g/l de agua destilada):

Agar-agar	2,0
Tween 80 (Merck art. 822187)	0,5

- Estufas Modelo FS900 a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Cabina de Seguridad Biológica Clase II, con doble filtro HEPA, marca Tecnoequipar (Argentina).

Todos los medios de cultivo fueron esterilizados en autoclave a 121°C por 15 minutos. (González y col., 1.995).

3.III.1.b. Procedimiento para la identificación de la micoflora contaminante

La identificación de los aislamientos primarios se realizó observando las características microscópicas mediante la técnica de microcultivo en cámara húmeda (**figura 3.III.c**). La descripción de la técnica es la siguiente:

1. En una caja de Petri se colocó un disco de papel de filtro, una varilla de vidrio en forma de "U" o triángulo y un portaobjetos, todos estos

- elementos se esterilizaron en forma conjunta en estufa durante 2 horas a 180°C (**figura 3.III.c, B**).
2. En otra caja de Petri se plaqueó agar Czapek Dox formando una capa de 2 mm de espesor. Una vez solidificado se cortó con bisturí estéril secciones de 1 cm² de área (**figura 3.III.c, A**). Uno de estos cuadrados se colocó en el centro del portaobjetos apoyado en la varilla de vidrio dentro de la caja descripta en 1.
 3. Con el ansa recta se inoculó los cuatro lados del cuadrado descripto en el punto 2, con el hongo proveniente del aislamiento primario y se cubrió con un cubreobjetos que se flameó en forma rápida para asegurar su esterilidad (**figura 3.III.c, C**). El cubreobjetos se colocó en el interior de la caja descripta en el punto 1. Donde previamente se humedeció con 2 ml de agua destilada estéril el papel de filtro, para obtener una atmósfera húmeda adecuada (**figura 3.III.c,D**). Todo el conjunto se incubó a 25°C.
 4. Las observaciones microscópicas se realizaron cada 12 horas (aumento 640 X ó 400 X).

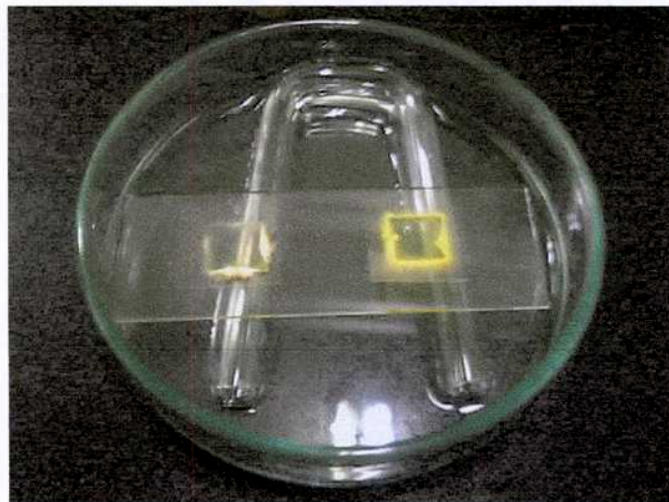


Figura 3.III.c. Esquema del microcultivo en cámara húmeda

El procedimiento es el mismo para todos los géneros pero con una única excepción. En el caso de las especies de *Fusarium* se utilizó Agar Clavel y Agar Clavel con KCl en lugar de agar Czapek Dox, como se describe en **3.III.1.c.**

3.III.1.c. Identificación de los aislados de *Fusarium*

Para la identificación de los aislados del género *Fusarium* se siguió la metodología propuesta por Nelson y col. (1.983). Para ello a partir de aislamientos primarios en PDA, incubados a 25°C durante 7 días, se realizaron cultivos monospóricos. Para esto se utilizaron placas de Agar agua al 1,5% con el agregado de sulfato de estreptomicina (0,5 g/l). Sobre el medio se colocaron, con pipetas Pasteur, 6 gotas de agua destilada estéril, se disgregó el micelio en una de ellas y posteriormente se homogeneizó la muestra. Luego de un período de incubación de 24 horas a 25°C se procedió a la obtención de conidios germinados mediante el uso de aguja histológica bajo lupa (40X). Un conidio fue transferido a un tubo con PDA inclinado, para observar características macroscópicas (coloración del micelio y del envés del cultivo) y otro conidio fue inoculado en CLA para observar características microscópicas de los conidios y conidióforos.

En el caso de aislados pertenecientes a la sección Liseola, un conidio se inoculó en agar hoja de clavel con cloruro de potasio, para confirmar las características microscópicas de los conidióforos.

Desarrollo de los aislados en medio Agar hoja de Clavel (CLA)

Las hojas de clavel se obtuvieron de plantas jóvenes libres de residuos de pesticidas, las cuales se cortaron en trozos de aproximadamente 5 mm². Luego se procedió a la desinfección superficial de las hojas colocándolas en un recipiente estéril con etanol al 70% durante un minuto, pasado ese tiempo se transfirieron a una solución de hipoclorito de sodio al 5% por 1 minuto y finalmente se realizaron 3 lavados con agua destilada estéril. Los trozos ya desinfectados se introdujeron en el agar agua y se plaquero las cajas de Petri para la posterior inoculación. Las mismas se dejaron durante 3 días a temperatura ambiente como control de esterilidad.

Como fuera descripto en **3.III.1.b.** se cortaron secciones del agar de 1 cm² de área conteniendo los trozos de hojas de clavel, se inocularon monospóricamente y se incubaron durante 7 días a 25°C con ciclos de luz blanca y luz U.V. de 12 hs. cada uno. Transcurrido el período de incubación, una vez colonizadas las hojas con el micelio, se inspeccionaron las cámaras de microcultivos bajo microscopio diariamente para la observación de las cadenas de microconidios, tipo de fiálides y presencia o ausencia de clamidosporas (González y col., 2.008).

Desarrollo de los aislados en Agar hoja de Clavel con cloruro de potasio (CLA-KCl)

El procedimiento de preparación e inoculación del medio fue el mismo al detallado en el punto anterior, pero utilizando como medio de cultivo agar KCl, cuya composición se detalla en **3.III.1.a.**

3.III.1.d. Identificación de los aislados de *Aspergillus* y *Penicillium*

A partir de los aislamientos primarios en PDA incubados a 25°C durante 7 días, se realizó la identificación de las especies siguiendo los esquemas propuestos por Ramírez (1.982) y Pitt y Hocking (1.997) para el género *Penicillium*, y por Klich (2.000), Samson y col. (2.000) y Pitt y Hocking (1.997) para el género *Aspergillus*.

De cada uno de las estrías desarrolladas se cosecharon los conidios, suspendiéndolos en 5 ml de medio semisólido. Estas suspensiones fueron utilizadas para inocular cajas de Petri que contenían los siguientes medios: MEA, G25N y CYA. Se usaron un total de 7 cajas de Petri por cada 2 cepas, sobre la base del siguiente esquema:

MEDIOS	TEMPERATURA DE INCUBACIÓN
CYA	25°C
	5°C y 37°C
	25°C
MEA	25°C
	25°C
G25N	25°C

Las placas se incubaron durante 7 días a las temperaturas indicadas en el esquema. La identificación se realizó teniendo en cuenta las siguientes características:

- Crecimiento: Se midió el diámetro de las colonias en el reverso de las placas desarrolladas en los medios a 25°C y 37°C. A 5°C se determinó la germinación de las esporas a una magnificación de 200X.
- Caracteres de las colonias: Se observó el color y textura de las colonias, por observación directa o en lupa.
- Observación microscópica: Se midió y determinó la forma de las fiálides y conidios (González y col., 2.008).

3.III.1.e. Identificación de aislados de otros géneros

A partir de los aislamientos primarios en PDA, se realizó la identificación usando distintas metodologías de acuerdo al género en estudio.

- a) Los géneros *Dematiáceos* como: *Alternaria*, *Arthrinium*, *Cladosporium*, *Curvularia* y *Epicoccum*, fueron identificados según la metodología descrita por Pitt y Hocking (1.997), resumida en **3.III.1.b**, y se confirmaron las observaciones morfológicas de acuerdo con Watanabe (2002) y Simmons (2007).
- b) Para el género *Phoma* y otros géneros se utilizó la metodología propuesta por Samson y col. (2.000), y se confirmaron las observaciones microscópicas de acuerdo con Von Arx (1.981).

c) Para los aislamientos de los géneros de Mucorales (*Rhizopus*, *Mucor*) se realizó la metodología propuesta por Samson y col. (2.000).

En las **figuras 3.III.d** y **e** se muestra, a manera de ejemplo, cultivos de *Alternaria alternata* en MEA y *Fusarium semitectum* en PDA y el desarrollo de conidios y conidióforos en agar Czapek y CLA, a 25 °C (x400), respectivamente.

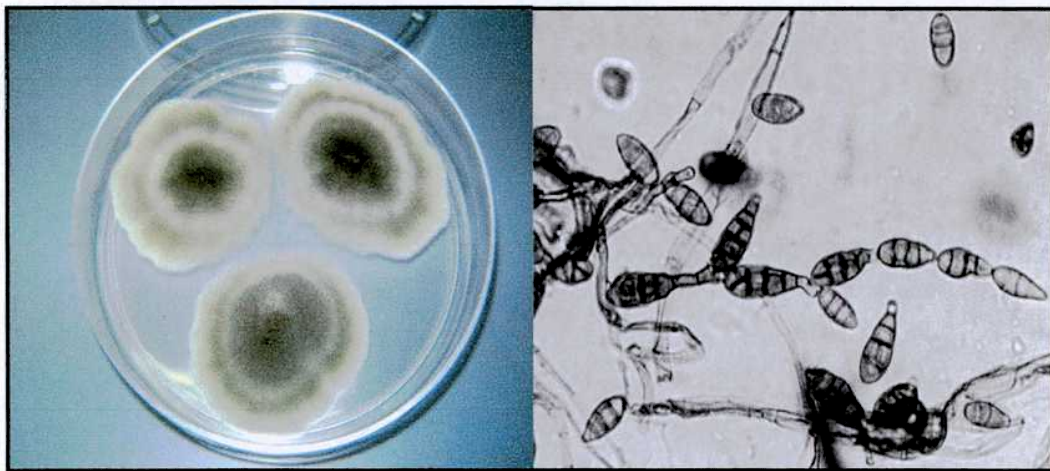


Figura 3.III.d. Cultivo de *Alternaria alternata* (MEA) y conidios en cadenas (Agar Czapek, X 640)

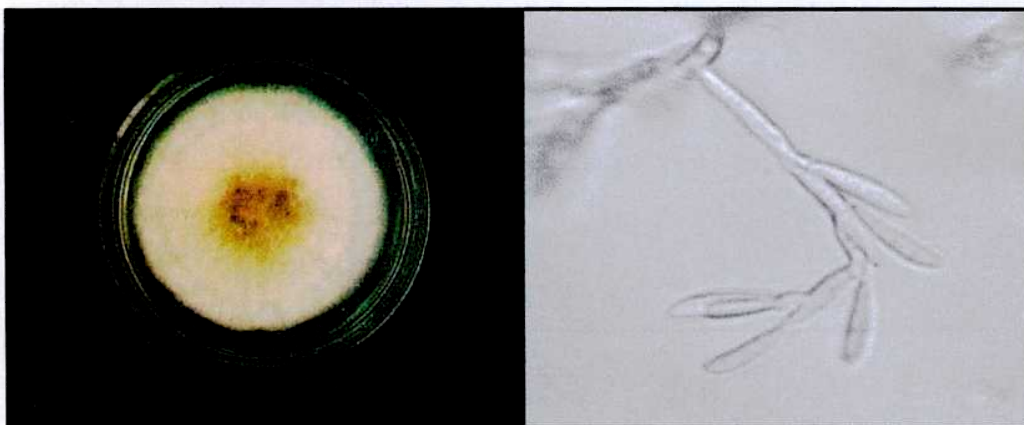


Figura 3.III.e. Cultivo de *Fusarium semitectum* (PDA) y polifiálides con mesoconidios (Agar clavel 640X)

3. IV. 1. Expresión de los resultados y métodos estadísticos

3. IV. 1.a- Frecuencia de aislamiento y densidad relativa de géneros y especies

Las frecuencias de aislamiento (Fr) y las densidades relativas (Dr) de géneros y especies fueron calculadas de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

$$Fr(\%) = \left(\frac{ns}{N}\right) \times 100$$

$$Dr(\%) = \left(\frac{ni}{Ni}\right) \times 100$$

Donde

ns = número de muestras contaminadas con hongos pertenecientes a un género o especie

N = número total de muestras

ni = número de aislados pertenecientes a un género o especie

Ni = número total de aislados fúngicos o de aislados pertenecientes a un género o especie

3. IV.1. b- Test Asintótico para igualdad de proporciones

Para la comparación de las densidades relativas de aislamiento entre localidades se empleó un test asintótico para igualdad de proporciones (Devore, 1.987), el cual se define a continuación.

Sean p_1 y p_2 la proporción de individuos en las poblaciones 1 y 2, respectivamente, que poseen una característica particular.

Alternativamente, si marcamos con S un individuo que posee la característica de interés, p_1 y p_2 representan las probabilidades de hallar una marca S al elegir aleatoriamente un individuo de las poblaciones 1 y 2, respectivamente.

Se supone la disponibilidad de una muestra de m individuos a partir de la primera población y n de la segunda. Las variables X e Y representarán el número de individuos en cada muestra poseyendo la característica de interés. Dado que el tamaño de las poblaciones es mucho mayor que el tamaño de las muestras, la distribución de X puede ser considerada como binomial, con parámetros m y p_1 , y similarmente Y es considerada como variable binomial con parámetros n y p_2 . Suponiendo que las muestras sean independientes una de otra, X e Y son variables aleatorias independientes.

El estimador natural para $p_1 - p_2$, la diferencia de proporciones en la población, es la correspondiente diferencia entre las proporciones muestrales: $X/m - Y/n$.

Con $\hat{p}_1 = X/m$ y $\hat{p}_2 = Y/n$, el estimador de $p_1 - p_2$ puede ser expresado como $\hat{p}_1 - \hat{p}_2$.

Si $X \sim \text{Bin}(m, p_1)$ e $Y \sim \text{Bin}(n, p_2)$ con X e Y variables independientes, tenemos:

$$E(\hat{p}_1 - \hat{p}_2) = p_1 - p_2$$

Entonces $\hat{p}_1 - \hat{p}_2$ es un estimador insesgado de $p_1 - p_2$ y

$$V(\hat{p}_1 - \hat{p}_2) = \frac{p_1 q_1}{m} + \frac{p_2 q_2}{n} \quad (\text{donde } q_i = 1 - p_i)$$

Si m y n son grandes, $\hat{p}_1$ y $\hat{p}_2$ individualmente tienen distribución aproximadamente normal, el estimador $\hat{p}_1 - \hat{p}_2$ tiene una distribución aproximadamente normal y entonces:

$$z = \frac{\hat{p}_1 - \hat{p}_2 - (p_1 - p_2)}{\sqrt{\frac{p_1 q_1}{m} + \frac{p_2 q_2}{n}}} \quad (\text{Ec. 3.IV.1.a.1.})$$

tiene distribución aproximadamente normal estándar. Si la hipótesis $H_0 : p_1 - p_2 = 0$ es cierta, entonces

$$z = \frac{\hat{p}_1 - \hat{p}_2 - 0}{\sqrt{pq\left(\frac{1}{m} + \frac{1}{n}\right)}} \quad (\text{Ec. 3.IV.1.a.2.})$$

Bajo $H_0 : p_1 = p_2 = p$, entonces si H_0 es cierta, en vez de muestras separadas de tamaño m y n de dos poblaciones diferentes (dos distribuciones binomiales diferentes), podemos considerar que tenemos realmente una muestra de tamaño $m + n$ de una población con proporción p . Dado que el número total de individuos, en esta muestra combinada con la característica de interés, es $X + Y$, el estimador de p es:

$$\hat{p} = \frac{X+Y}{m+n} = \frac{m}{m+n} \hat{p}_1 + \frac{n}{n+m} \hat{p}_2 \quad (\text{Ec. 3.IV.1.a.3}),$$

El término del extremo derecho de la ecuación anterior muestra que $\hat{p}$ es realmente un promedio ponderado de los estimadores $\hat{p}_1$ y $\hat{p}_2$

Si tomamos la ecuación (Ec. 3.IV.1.a.3), con $\hat{q} = 1 - \hat{p}$, y sustituimos en (Ec. 3.IV.1.a.2.) el estadístico resultante tiene aproximadamente una distribución normal estándar. Por lo tanto el estadístico del test es:

$$z = \frac{\hat{p}_1 - \hat{p}_2}{\sqrt{\hat{p}\hat{q}\left(\frac{1}{m} + \frac{1}{n}\right)}}$$

Si la hipótesis alternativa es $H_a : p_1 - p_2 \neq 0$, la región de rechazo para un test de nivel aproximado α es:

$$z \geq z_{\alpha/2} \text{ o } z \leq -z_{\alpha/2}$$

Si la hipótesis alternativa es unilateral, $H_a : p_1 - p_2 > 0$ ó $H_a : p_1 - p_2 < 0$, las regiones de rechazo son: $z > z_\alpha$ y $z < -z_\alpha$, respectivamente, siendo z_α el valor tal que $1 - \Phi(z_\alpha) = \alpha$ (Φ : función de distribución normal estándar).

Definición de valor p

El valor p es el menor nivel de significación al cual la hipótesis nula es rechazada, cuando se usa un procedimiento de testeo específico sobre

un determinado conjunto de datos. Una vez que el valor p ha sido determinado, la conclusión a cualquier nivel particular de α resulta de comparar el valor p con α , de la siguiente forma:

- a. valor $p \leq \alpha \Rightarrow$ rechazamos H_0 a nivel α .
- b. valor $p > \alpha \Rightarrow$ no rechazamos H_0 a nivel α .

Es costumbre llamar a los datos "significativos" cuando H_0 es rechazado y "no significativos" en caso contrario. El valor p es entonces el menor valor al cual los datos son significativos (Devore, 1.987).

Para los casos en que se comparó la frecuencia relativa de aislamiento, este Test se aplicó mediante el paquete estadístico Statistix versión 7.0 (2.000).

3.IV.1.c. Test exacto de Fisher

El análisis de las posibles diferencias en el comportamiento de las frecuencias de aislamiento entre localidades se realizó empleando el Test exacto de Fisher (Conover, 1.980; Bradley; 1.968). El mismo se define como un test para diferencias entre proporciones de dos muestras independientes. Es similar al test Chi-cuadrado, pero está diseñado específicamente para tablas de contingencia de 2x2 y calcula valores p exactos cuando las muestras son pequeñas.

Este test y el de la mediana se aplicaron mediante el paquete estadístico Statistix versión 7.0 (2.000).

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.I. Micoflora de las semillas de soja.

4.I.1. Micoflora endógena de semillas de soja tratadas con insecticidas

En la tabla **4.I.1.a** se muestran los estadísticos del análisis de la contaminación fúngica total de las semillas de soja tratadas con dos dosis de cada insecticida (Endosulfan, Fenitrothion y Chlorpyrifos + cypermethrin) y la de semillas sin tratar (testigo). Se puede observar que, independientemente del insecticida empleado, se aprecia una disminución del nivel de contaminación fúngica en las semillas de soja tratadas con respecto al testigo.

En la figura **4.I.1.a** se muestran los box plots de la contaminación fúngica endógena total (expresada como porcentaje de infección) en semillas de soja tratadas y el box plot de la contaminación de las muestras testigo sin insecticidas. Se puede observar que la mediana de la contaminación de las muestras testigo es superior a las medianas de contaminación de las muestras tratadas con ambas dosis cualquiera sea el insecticida que se considere.

Después de emplear el test de la mediana, se detectaron diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) en la comparación entre el testigo sin insecticidas y tratamientos con endosulfan y fenitrothion (considerando los dos niveles de dosis) y con chlorpyrifos + cypermethrin (considerando la dosis de 750cc/ha) y se observó una

diferencia significativa ($p<0,05$) para la comparación entre el testigo y el tratamiento con chlorpirifos + cypermethrin (dosis de 550cc/ha).

Al analizar estadísticamente la contaminación fúngica a los dos niveles de dosis ensayadas de cada insecticida, se detectó una diferencia significativa ($p<0,05$) en la comparación entre las dosis de 550cc/ha y 750cc/ha, para chlorpirifos + cypermethrin, y no se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) para las comparaciones entre las dosis de endosulfan y fenitrothion, respectivamente.

Tabla 4.I.1.a. Estadísticos del porcentaje de las semillas de soja infectadas con mohos en función del tipo de insecticidas y de las dosis ensayados en Manfredi, Provincia de Córdoba.

		Porcentaje de semillas infectadas				
Insecticida		Dosis (cc/ha)	Media	Mediana	SD ^a	MAD ^b
	Endosulfan	1.200	9,4	10,0	8,7	4,0
		1.500	9,3	7,0	12,1	8,7
	Chlorpyrifos+ cypermethrin	550	22,1	12,1	21,2	12,0
		750	8,0	4,0	11,9	4,0
	Fenitrothion	400	3,4	3,0	3,4	3,0
		600	5,4	6,0	4,6	4,0
	Testigo		54,1	56,0	22,7	14,0

a desviación estándar

b desviación de la mediana absoluta

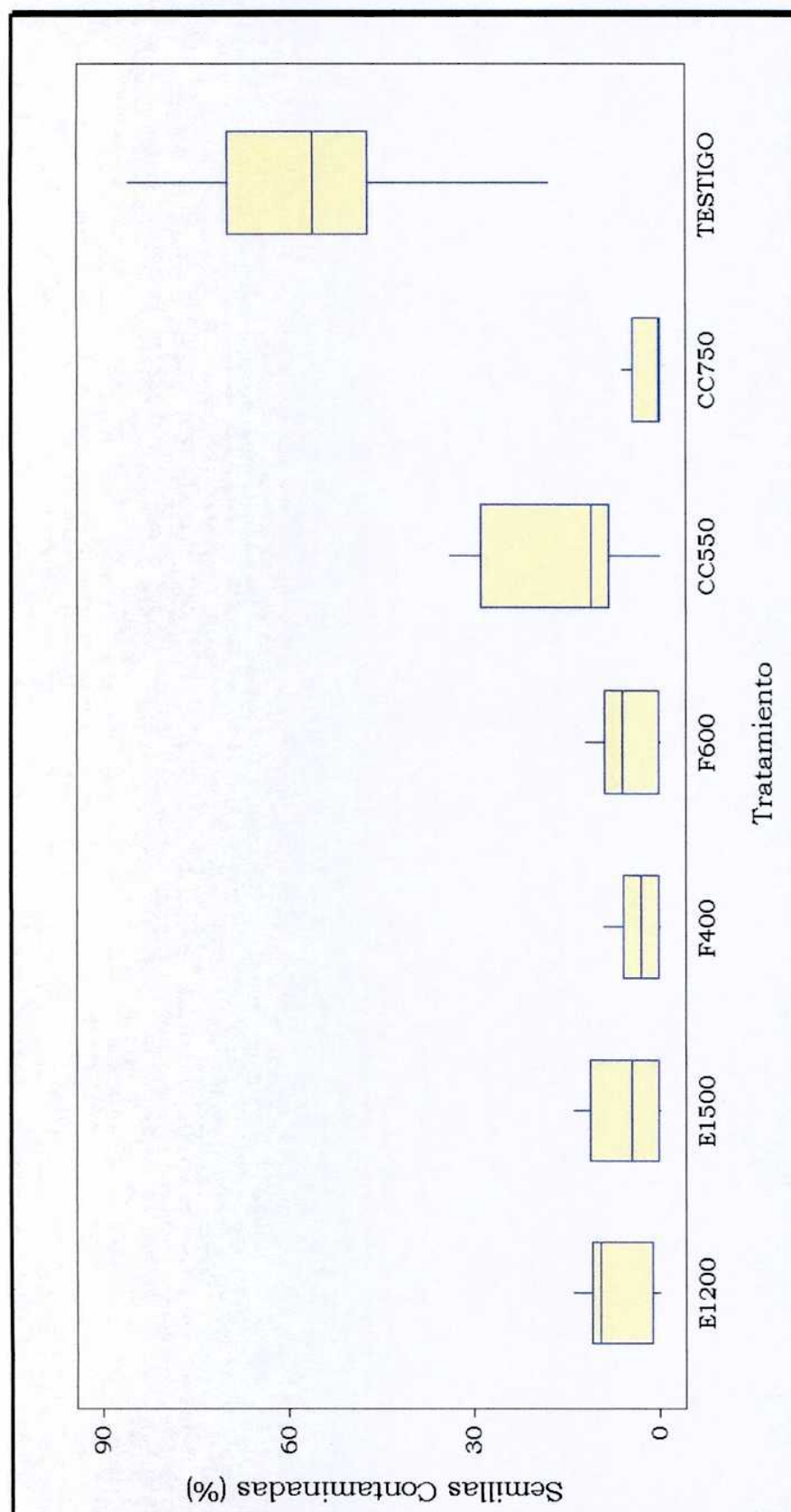


Figura 4.I.1.a. Contaminación fúngica en semillas de soja tratadas con 2 dosis (en cc/ha) de insecticidas (E: endosulfan; F: fenitrothion; CC: chlorpyrifos + cypermethrin) en un ensayo llevado a cabo en Manfredi, Provincia de Córdoba.

En la tabla **4.I.1.b** se presentan los mohos aislados e identificados en las semillas de soja tratada con distintos insecticidas en Manfredi en 2.006.

Considerando todas las muestras se identificaron 15 géneros y 28 especies fúngicas diferentes. Los mohos prevalentes fueron: *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Alternaria alternata*, *Fusarium semitectum*, *Phoma glomerata*, *Aspergillus flavus*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium citrinum* y *Aspergillus niger*.

Es interesante destacar que en las muestras tratadas y dentro del género *Fusarium*, se aislaron *F. semitectum* y otras especies de *Fusarium* spp. (figura **4.I.1.b**), mientras que en las muestras testigo fueron halladas en niveles relativamente otros *Fusarium* de interés micotoxicológico como *F. equiseti* (figura **4.I.1.b**).

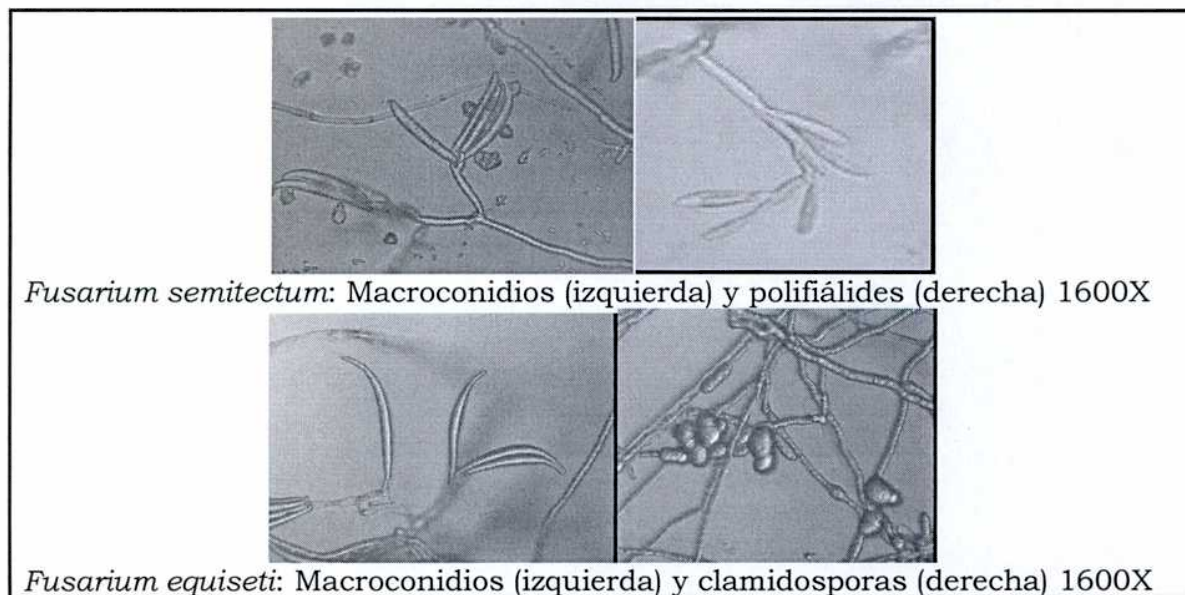


Figura 4.I.1.b. Especies de *Fusarium* identificadas en las muestras tratadas y en el testigo sin insecticidas.

Tabla 4.I.1.b. Frecuencia de aislamiento y densidad relativa de los mohos aislados de semillas de soja cosechada luego de aplicar distintos insecticidas en Manfredi, Argentina en 2.006.

Tratamiento																	
Especies	Dosis (cc/ha)	Endosulfan			Fenitrothion			Chlorpyrifos+cypermethrin			Control (libre de insecticida)						
		1.200	DR ^b	Fr ^a	1.500	DR	Fr	400	DR	Fr	550	DR	Fr	750	DR	Fr	DR
<i>Acremonium strictum</i>		ndc	nd	11,1	0,9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
<i>Alternaria alternata</i>		55,5	11,2	55,5	16,8	10	nd	44,4	nd	55,6	6,4	33,3	5,9	100,0	12,3		
<i>Aspergillus flavus</i>		22,2	2,2	11,1	0,9	5	22,2	9,5	nd	nd	nd	22,2	4,8	44,4	4,5		
<i>Aspergillus niger</i>		nd	nd	11,1	0,9	nd	nd	nd	nd	22,2	29,2	11,1	1,2	55,6	3,3		
<i>Aspergillus niveus</i>		nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	33,3	1,8		
<i>Aspergillus spp.</i>		nd	nd	nd	nd	7,5	22,2	6,3	nd	nd	nd	11,1	1,2	nd	nd		
<i>Aspergillus ustus</i>		11,1	1,1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd		
<i>Aspergillus versicolor</i>		11,1	1,1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd		
<i>Cladosporium cladosporioides</i>		nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	44,4	3,3		
<i>Eurotium chevalieri</i>		nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	33,3	1,6		
<i>Fusarium equiseti</i>		nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	33,3	9,6		
<i>Fusarium graminearum</i>		nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	33,3	1,4		
<i>Fusarium proliferatum</i>		nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	22,2	0,4		
<i>Fusarium semitectum</i>		11,1	7,8	33,3	13,3	2,5	nd	11,1	nd	nd	nd	nd	nd	88,9	28,1		
<i>Fusarium spp.</i>		nd	nd	11,1	0,9	nd	nd	nd	nd	11,1	1,5	nd	nd	nd	nd		
<i>Fusarium verticillioides</i>		nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	33,3	0,8		
<i>Nigrospora oryzae</i>		11,1	1,1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd		
<i>Paecilomyces variotii</i>		nd	nd	11,1	1,8	nd	nd	nd	nd	33,3	8,4	nd	nd	nd	nd		
<i>Penicillium citrinum</i>		11,1	1,1	22,2	1,8	nd	nd	nd	1,6	33,3	3,5	11,1	1,2	nd	nd		
<i>Penicillium corylophilum</i>		nd	nd	11,1	5,3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd		
<i>Penicillium implicatum</i>		nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	44,4	0,8		
<i>Phoma glomerata</i>		22,2	2,2	33,3	22,1	27,5	33,3	33,3	33,3	22,2	1,5	nd	nd	nd	nd		
<i>Phoma sorghina</i>		nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11,1	0,5	nd	nd	nd	nd		
<i>Rhizoctonia solani</i>		66,7	31,4	55,6	23	35	66,7	9,5	9,5	88,9	16,4	55,6	15,5	88,9	21,7		
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>		33,3	12,4	55,6	12,4	12,5	77,7	22,2	22,2	55,6	15,8	66,7	26,2	66,7	8,0		
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>		nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	11,1	0,4		
<i>Trichoderma harzianum</i>		11,1	28,1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	22,2	16,8	22,2	44	44,4	1,0		
<i>Ulocladium botrytis</i>		nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	33,3	0,8		

a frecuencia de aislamiento (%); b densidad relativa (%); c no detectado (nd)

a frecuencia de aislamiento (%); b densidad relativa (%); c no detectado (nd)

La contaminación de mohos en la soja tratada con insecticidas fue cualitativamente similar, pero cuantitativamente menor que la observada en un ensayo multiambiental realizado en el INTA a través de la Red Nacional de Ensayos de Variedades de Soja (Zelaya y col., 2.006 a yb).

Más del 99% de los mohos aislados en este trabajo en las muestras control y en las tratadas con insecticidas fueron Deuteromycetes y Ascomycetes. Este hallazgo es consistente con lo observado en estudios previos de micoflora de soja en Estados Unidos de América (Roy y col., 2.001; Villaroel y col., 2.004), sin embargo la contaminación en las muestras de Argentina fue menor tanto respecto al control como a las muestras tratadas con insecticidas. En la soja estudiada en Norteamérica, considerando semillas, vainas y flores, se identificaron 63 géneros y alrededor de 108 o más especies contaminando las semillas.

Todas las especies fúngicas identificadas fueron comparadas estadísticamente. Por un lado, no se detectaron diferencias significativas ($p>0,05$) de las *Fr* de los mohos aislados en las muestras tratadas cuando se compararon entre sí las dos dosis de endosulfan, de fenitrothion y de chlorpyrifos + cypermethrin.

Cuando se analizaron las muestras tratadas con el testigo (semilla sin tratar) se observaron diferencias altamente significativas ($p<0,01$) en la comparación entre *Fr* de las muestras tratadas con 1.200 cc/ha de endosulfan y el testigo para *A. alternata*, *S. sclerotiorum* y *F. semitectum*. También se detectaron diferencias altamente significativas

($p < 0,01$) en la comparación entre *Fr* de las muestras tratadas con 750 cc/ha de chlorpirifos + cypermethrin y el testigo para *A. alternata*.

No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) para ninguna especie en la comparación entre las *Fr* de los mohos aislados de las muestras tratadas con fenitrothion, independientemente de la dosis y el testigo.

En la comparación entre la *DR* de las muestras tratadas con endosulfan en ambas dosis, se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) para *A. alternata* y altamente significativas ($p < 0,01$) para *T. harzianum*.

En la comparación entre la *DR* de las muestras tratadas con 1.200 cc/ha de endosulfan y el testigo, se observaron diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) para *F. semitectum* y *T. harzianum*, y diferencias significativas ($p < 0,05$) para *R. solani*.

En la comparación entre la *DR* de las muestras tratadas con 1.500cc/ha de endosulfan y el testigo, se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) para *A. flavus*, *F. semitectum* y *T. harzianum*.

En la comparación entre la *DR* de las muestras tratadas con chlorpirifos + cypermethrin en ambas dosis, se observaron diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) para *A. niger* y *T. harzianum*.

En la comparación entre la *DR* de las muestras tratadas con 550cc/ha de chlorpirifos + cypermethrin y el testigo, se observaron diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) para *A. niger*, *S. sclerotiorum* y *T. harzianum*, y diferencias significativas ($p < 0,05$) para *A. alternata*.

En la comparación entre la *DR* de las muestras tratadas con 750cc/ha de chlorpyrifos + cypermethrin y el testigo, se observaron diferencias altamente significativas ($p<0,01$) para *A. alternata*, *S. sclerotiorum* y *T. harzianum*.

Es interesante destacar que *F. semitectum* no fue aislado de ninguna muestra tratada con chlorpyrifos + cypermethrin.

En la comparación entre la *DR* de las muestras tratadas con fenitrothion en ambas dosis, se observaron diferencias altamente significativas ($p<0,01$) para *Phoma glomerata*.

En la comparación entre la *DR* de las muestras tratadas con 400cc/ha de fenitrothion y el testigo, se observaron diferencias altamente significativas ($p<0,01$) para *F. semitectum*.

En la comparación entre la *DR* de las muestras tratadas con 600cc/ha de fenitrothion y el testigo, no se observaron diferencias estadísticas ($p>0,05$).

4.1.2. Micoflora endógena de semillas de soja tratadas con glifosato

En la figura **4.1.2.a** se observan los box plots de la contaminación fúngica de semillas de soja, en función de las dosis de glifosato estudiadas, y el testigo sin herbicida. Como puede apreciarse, en el testigo la mediana de contaminación es mayor que la de los diferentes tratamientos con herbicida. Parecería que, en este ensayo, la aplicación de glifosato en las menores dosis, disminuiría la contaminación fúngica en las semillas.

Después de aplicar el test de la mediana (Statistix 7.0, 2.000), se detectaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el testigo sin glifosato y los tratamientos con las dosis de 1,5L/ha, 2,0L/ha, 2,5L/ha y 3,0L/ha y no se registraron diferencias estadísticas cuando se comparó el testigo sin herbicida con las muestras tratadas con 4,0L/ha y 5,0L/ha ($p < 0,3428$ y $p < 0,5770$, respectivamente).

En la figura **4.1.2.b** se pueden observar los valores de *DR* y *Fr* de las especies fúngicas aisladas e identificadas en el ensayo de soja tratada con glifosato en Manfredi. Considerando los 2.246 aislamientos en las 60 muestras analizadas, las especies micotoxigénicas predominantes en base a la *DR* y *Fr*, fueron: *Fusarium equiseti* (*DR*: 38,6 y *Fr*: 41,7), *Aspergillus flavus* (20,5 y 83,3), *Alternaria alternata* (1,2 y 36,7), *Aspergillus clavatus* (3,0 y 26,7), *Aspergillus niger* (1,6 y 15,0), *Penicillium citrinum* (0,4 y 10,0), *Fusarium semitectum* (0,6 y 6,7), *Fusarium avenaceum* (0,1 y 3,3), *Fusarium graminearum* (0,1 y 1,7) y *Fusarium verticillioides* (0,1 y 1,7). Las *DR* y *Fr* de otros mohos identificados figuran en la tabla **4.1.2.a**.

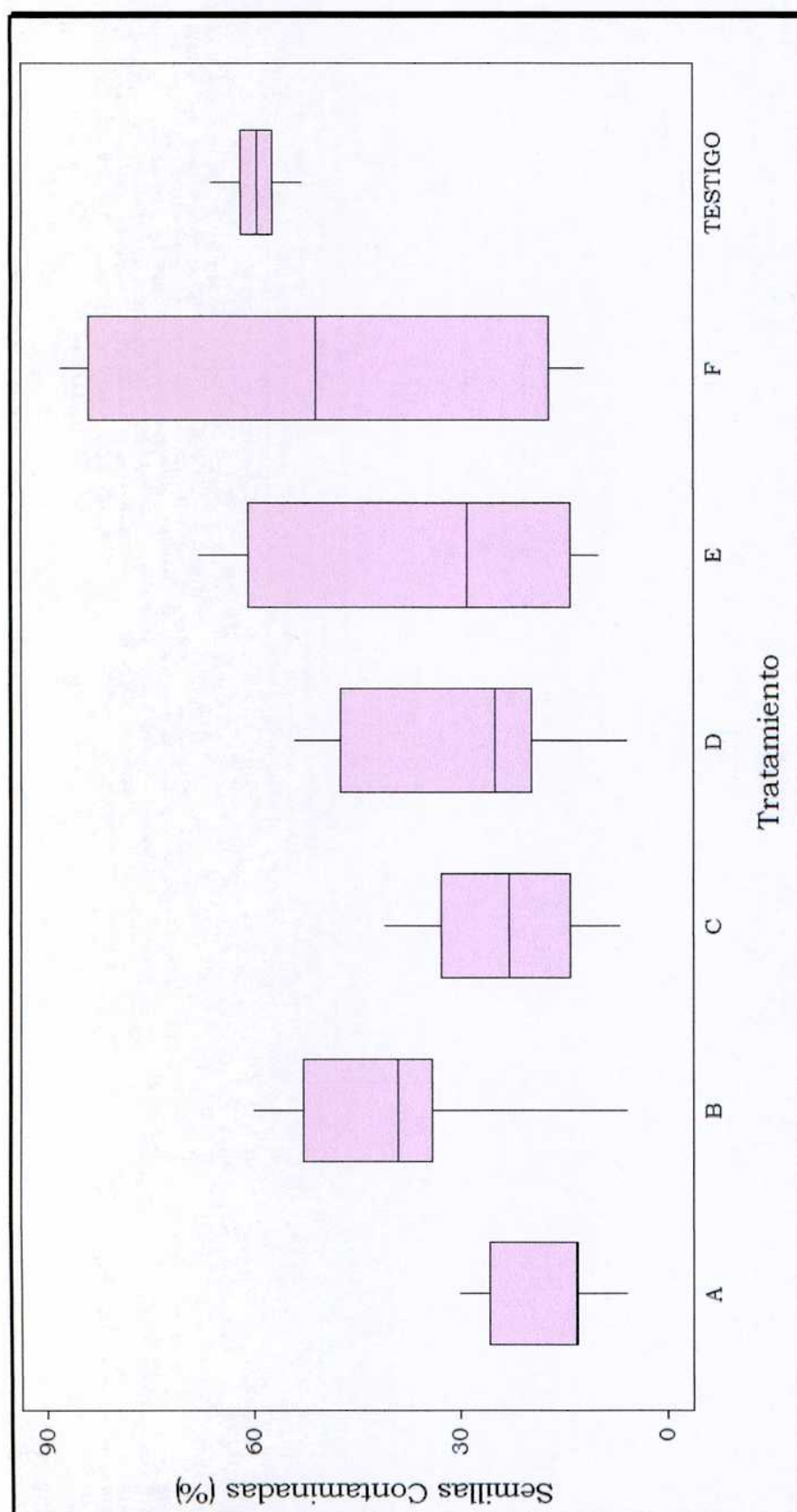


Figura 4.1.2.a. Box plots de la mediana de contaminación de semillas de soja en ensayos con distintas dosis de glifosato (A: 1,5L/ha; B: 2,0L/ha; C: 2,5L/ha; D: 3,0L/ha; E: 4,0L/ha y F: 5,0L/ha) y del testigo (sin herbicida).

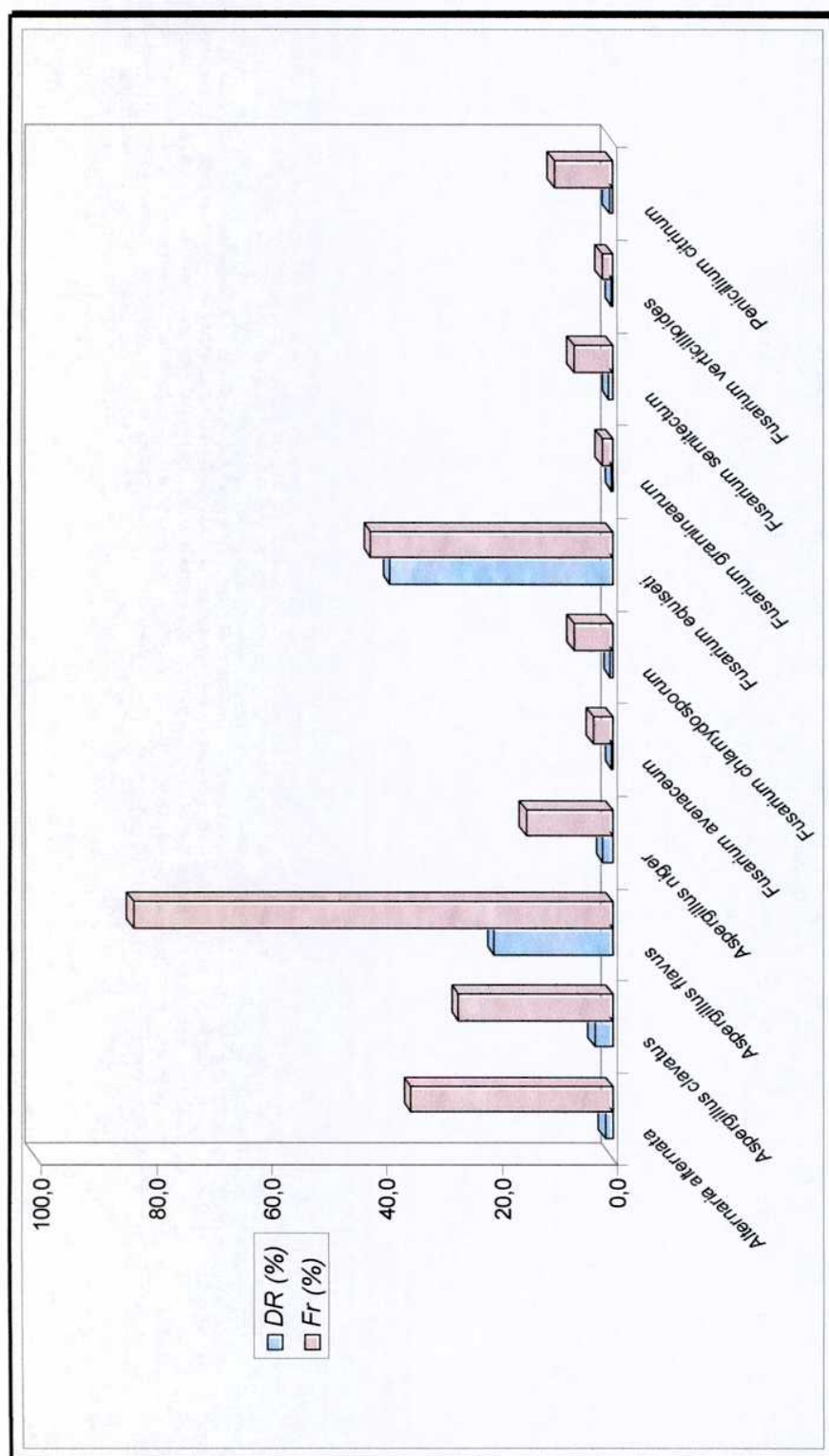


Figura 4.1.2.b. DR y Fr de las especies fúngicas potencialmente toxigénicas aisladas de semillas de soja tratada con glifosato Manfredi, Provincia de Córdoba.

Tabla 4.I.2.a. *DR* y *Fr* de otras especies fúngicas aisladas de soja tratada con glifosato Manfredi, Provincia de Córdoba.

Especies	DR (%)	Fr (%)
<i>Acremonium strictum</i>	6,4	3,3
<i>Aspergillus candidus</i>	8,6	36,7
<i>Aspergillus penicillioides</i>	3,1	13,3
<i>Aspergillus ustus</i>	1,0	6,7
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	0,3	6,7
<i>Eurotium chevalieri</i>	1,0	13,3
<i>Mucor racemosus</i>	1,4	1,7
<i>Neosartorya fischeri</i>	1,0	5,0
<i>Penicillium implicatum</i>	2,8	26,7
<i>Rhizoctonia solani</i>	14,5	50,0
<i>Rhizopus stolonifer</i>	3,9	3,3
<i>Trichoderma harzianum</i>	2,1	6,7

En la figura **4.I.2.c.** se encuentran las *DR* y *Fr* de las especies fúngicas aisladas e identificadas de las 10 muestras testigo de semillas de soja (sin glifosato). Tomando en cuenta la *Fr*, *A. alternata* es la especie más frecuentemente aislada, seguida de *C. cladosporioides*, *A. flavus*, *F. equiseti*, *S. sclerotiorum*, *R. solani*, *P. implicatum*, *S. brevicaulis* y *T. harzianum*. Aparecen como poco frecuentes *A. niger*, *F. graminearum*, *F. semitectum* y *F. verticillioides*. Basándonos en el valor de *DR*, *A. flavus*, *A. alternaria* y *F. equiseti* fueron las especies más predominantes, mientras que *F. semitectum* mostró valores de *DR* bajos.

Considerando las especies de interés micotoxigénico, en las tablas **4.I.2.d.** y **e.** se muestran los valores de *DR* y *Fr* en semillas de soja tratadas con glifosato y sin el herbicida (testigos). Como se puede observar *A. alternata* fue predominante en los testigos con respecto a las muestras tratadas, *A. flavus* mostró una mayor *Fr* en las muestras

tratadas en comparación con los testigos, pero una menor *DR*. *F. equiseti* no mostró diferencias en las *Fr* entre muestras tratadas y los testigos, pero sí una mayor *DR* en las muestras con glifosato en comparación con las sin tratar. En el caso de *F. semitectum*, tanto la *Fr* como la *DR* fueron mayores en los testigos sin herbicida.

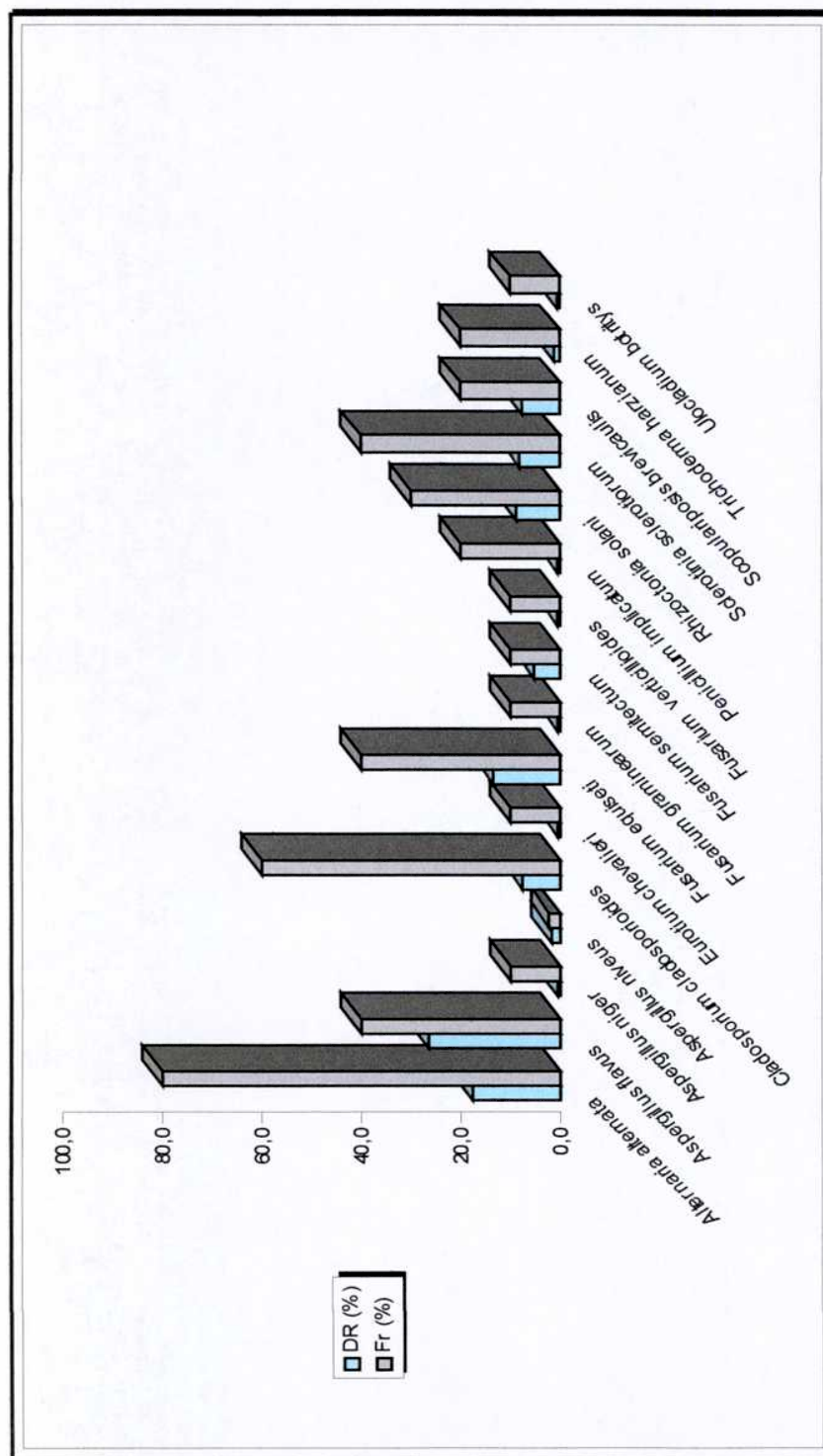


Figura 4.1.2.c. DR y Fr de las especies fúngicas aisladas de semillas de soja sin glifosato (testigo) en Manfredi, Provincia de Córdoba.

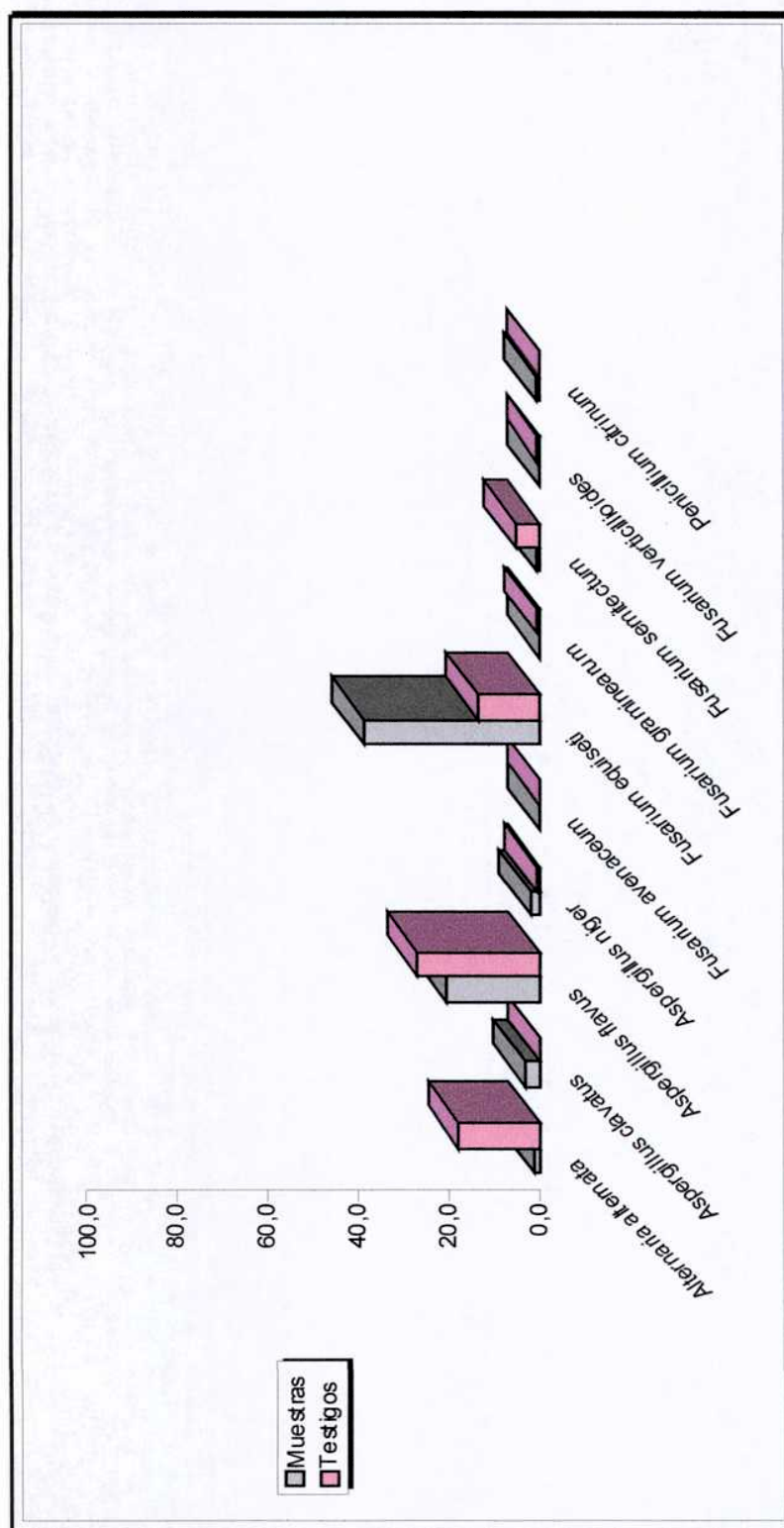


Figura 4.I.2.d. DR de las especies fúngicas potencialmente toxigénicas aisladas de semillas de soja sin glifosato (testigos) y con glifosato (muestras) en Manfredi, Provincia de Córdoba.

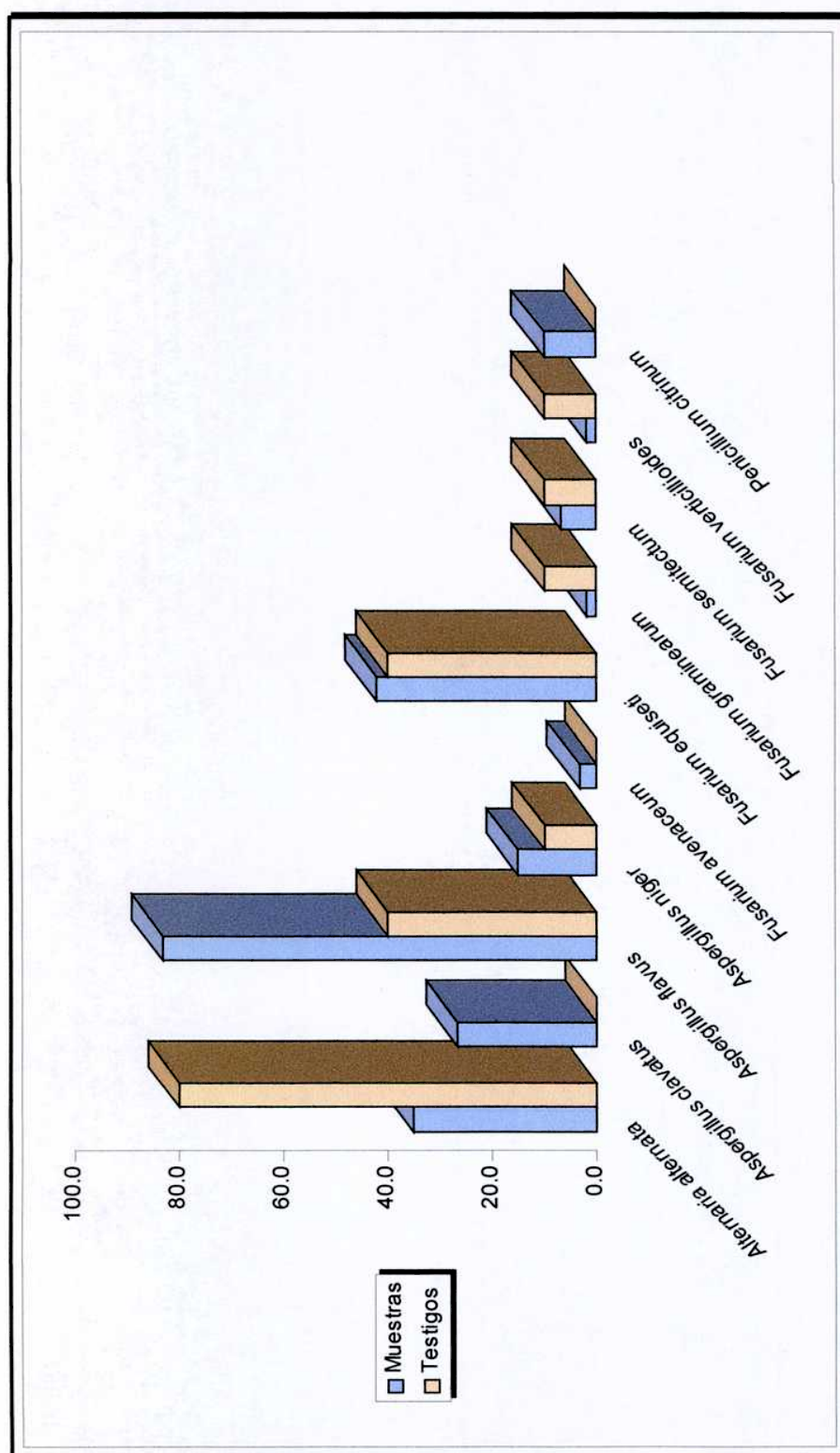


Figura 4.1.2.e. *Fr* de las especies fúngicas potencialmente toxigénicas aisladas de semillas de soja sin glifosato (testigos) y con glifosato (muestras) en Manfredi, Provincia de Córdoba.

4.1.3. Micoflora endógena de las semillas de soja tratadas con fungicidas

En la figura **4.1.3.a** se muestra el efecto de los distintos fungicidas en el porcentaje de contaminación fúngica en semillas de soja en ensayos realizados en Paraná, Provincia de Entre Ríos y en Roque Sáenz Peña, Provincia de Chaco.

Se puede observar que en los box plots de la contaminación fúngica total de ambos testigos, la mediana es mayor en relación con la observada en las muestras con tratamiento de fungicidas en cada localidad, como era de esperarse.

En la figura **4.1.3.b** se puede ver el efecto de los fungicidas sobre las semillas de soja en el ensayo realizado en Chaco y en la figura **4.1.3.c** lo ocurrido en el ensayo realizado en Paraná.

Los menores porcentajes de semillas infestadas se registraron en los tratamientos con SSF-126 + MKH-913+ N.Oleo* 300; Rundle 600 + 500, en Entre Ríos y Pyraclostrobin (13,3%) + epoxiconazole (5%) y Tebuconazole (25%) en Chaco.

En estos ensayos en comparación con los testigos (sin tratamiento con fungicidas), parecería que la aplicación de estos agroquímicos afecta la micoflora endógena.

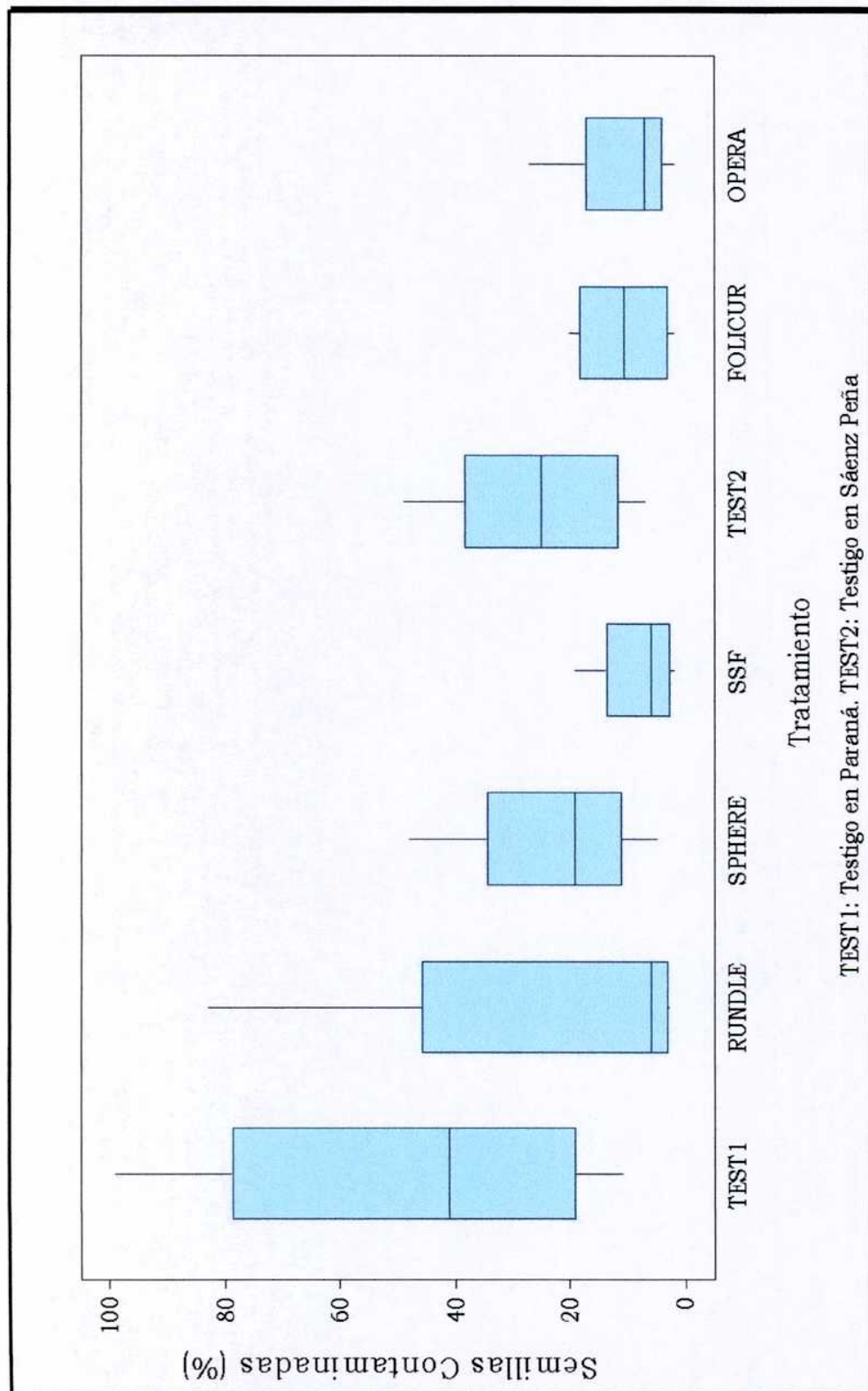


Figura 4.1.3.a. Box plots de los valores de la mediana de contaminación fúngica de semillas de soja con distintos tratamientos con fungicidas en las Provincias de Entre Ríos y de Chaco.

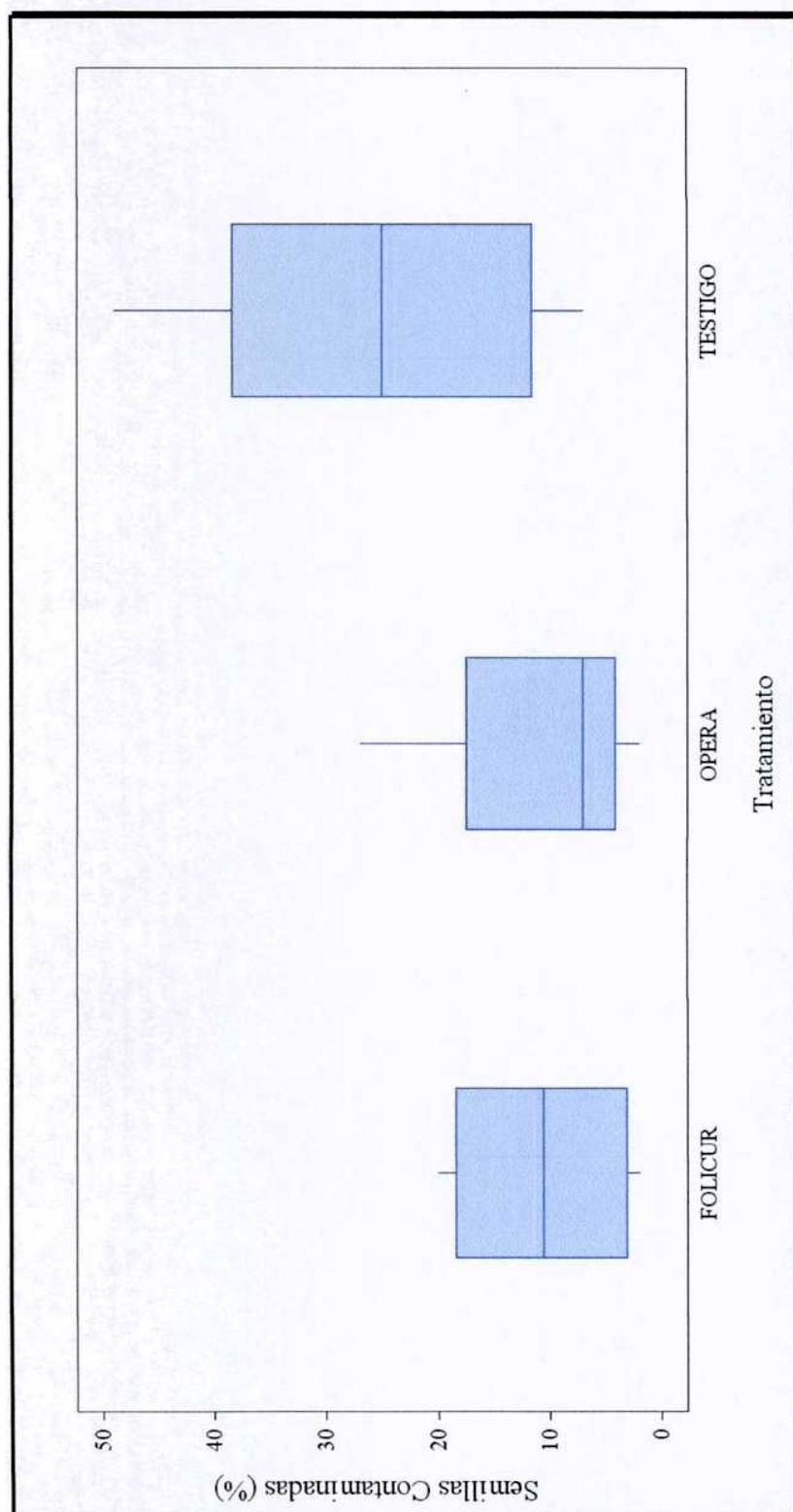


Figura 4.I.3.b. Box plots de los valores de la mediana de contaminación fúngica de semillas de soja tratadas con dos fungicidas (Folicur y Opera) y con el testigo, ensayo realizado en Roque Sáenz Peña, Provincia de Chaco.

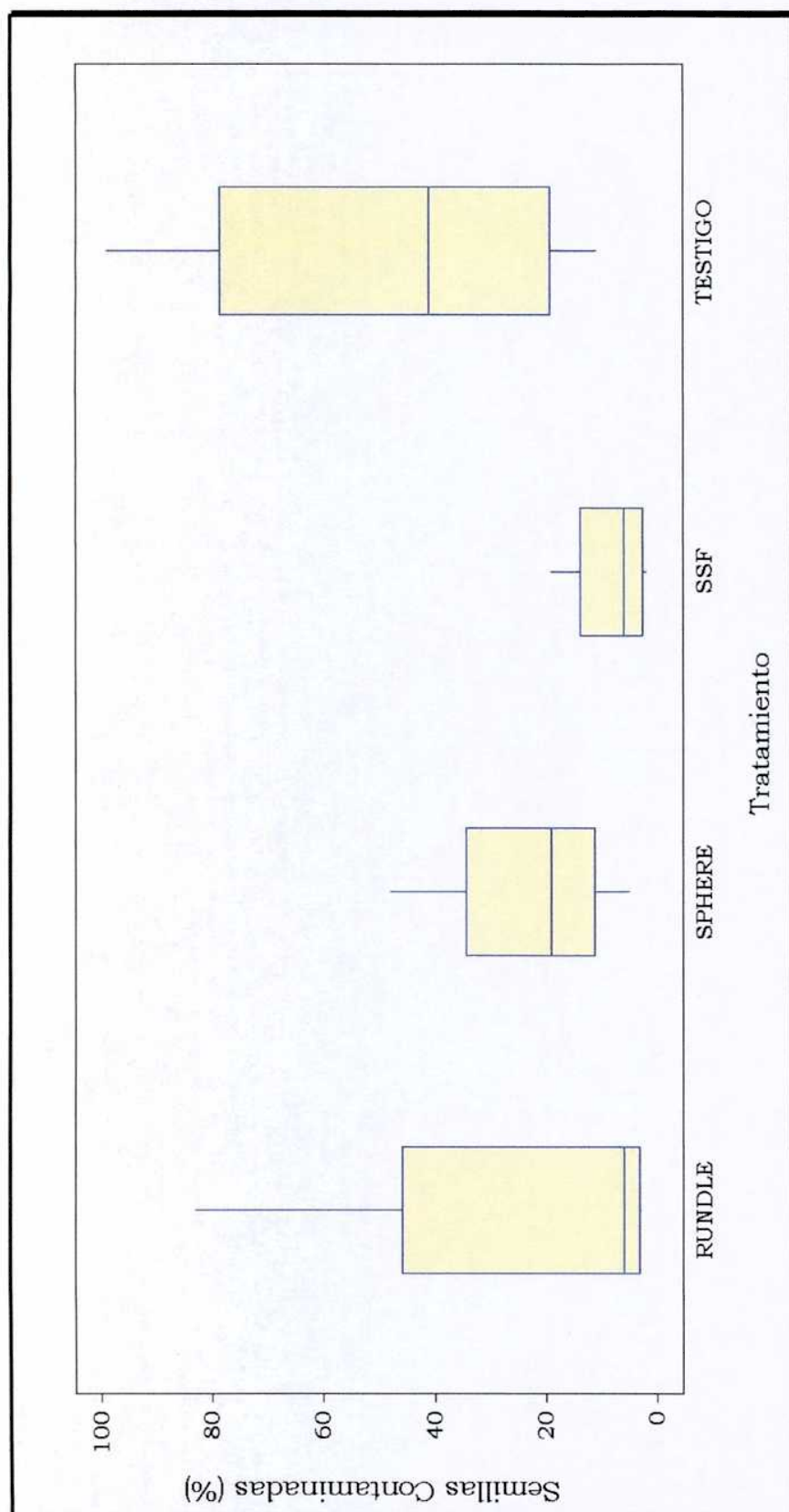


Figura 4.1.3.c. Box plots de los valores de la mediana de contaminación fúngica de semillas de soja tratadas con tres fungicidas (Rundle, Sphere y SSF) y con el testigo en Paraná, Provincia de Entre Ríos.

En la figura **4.I.3.d** se pueden observar los valores de *DR* y *Fr* de las especies fúngicas aisladas de las muestras de soja del ensayo con fungicidas llevado a cabo en Paraná (16 muestras y 275 aislamientos). Los hongos toxicogénicos prevalentes identificados fueron: *Fusarium semitectum*, *Penicillium citrinum*, *Fusarium equiseti* y *Alternaria alternata*. En la figura **4.I.3.e** se muestran las *DR* y *Fr* de las especies fúngicas aisladas de semillas soja sin fungicidas (testigo) analizadas en el mismo ensayo (12 muestras y 587 aislamientos). Como se puede observar las especies prevalentes fueron: *S. sclerotiorum*, *A. alternata* y *F. equiseti*.

En las figuras **4.I.3.f** y **g**. se muestran los valores de *DR* y *Fr* de las especies de interés micotoxigénico aisladas de muestras de semillas de soja con fungicidas y sin tratar en Paraná. *A. alternata* y *F. equiseti* fueron los mohos predominantes en los testigos en relación con las muestras tratadas. Otras especies como *A. flavus*, *A. niger*, *F. semitectum*, *F. verticillioides* y *P. citrinum* prevalecieron en las muestras tratadas en comparación con los testigos.

En la figura **4.I.3.h** se observan los valores de *DR* y *Fr* de las especies fúngicas aisladas de las muestras de soja del ensayo con fungicidas llevado a cabo en Roque Sáenz Peña (8 muestras y 86 aislamientos). Los hongos toxicogénicos prevalentes fueron: *Penicillium citrinum*, *Aspergillus flavus*, *Alternaria alternata* y *Fusarium semitectum*. En la figura **4.I.3.i** se muestran las *DR* y *Fr* de las especies fúngicas aisladas de semillas soja sin fungicidas (testigo) analizadas en el mismo ensayo (12 muestras y 303 aislamientos).

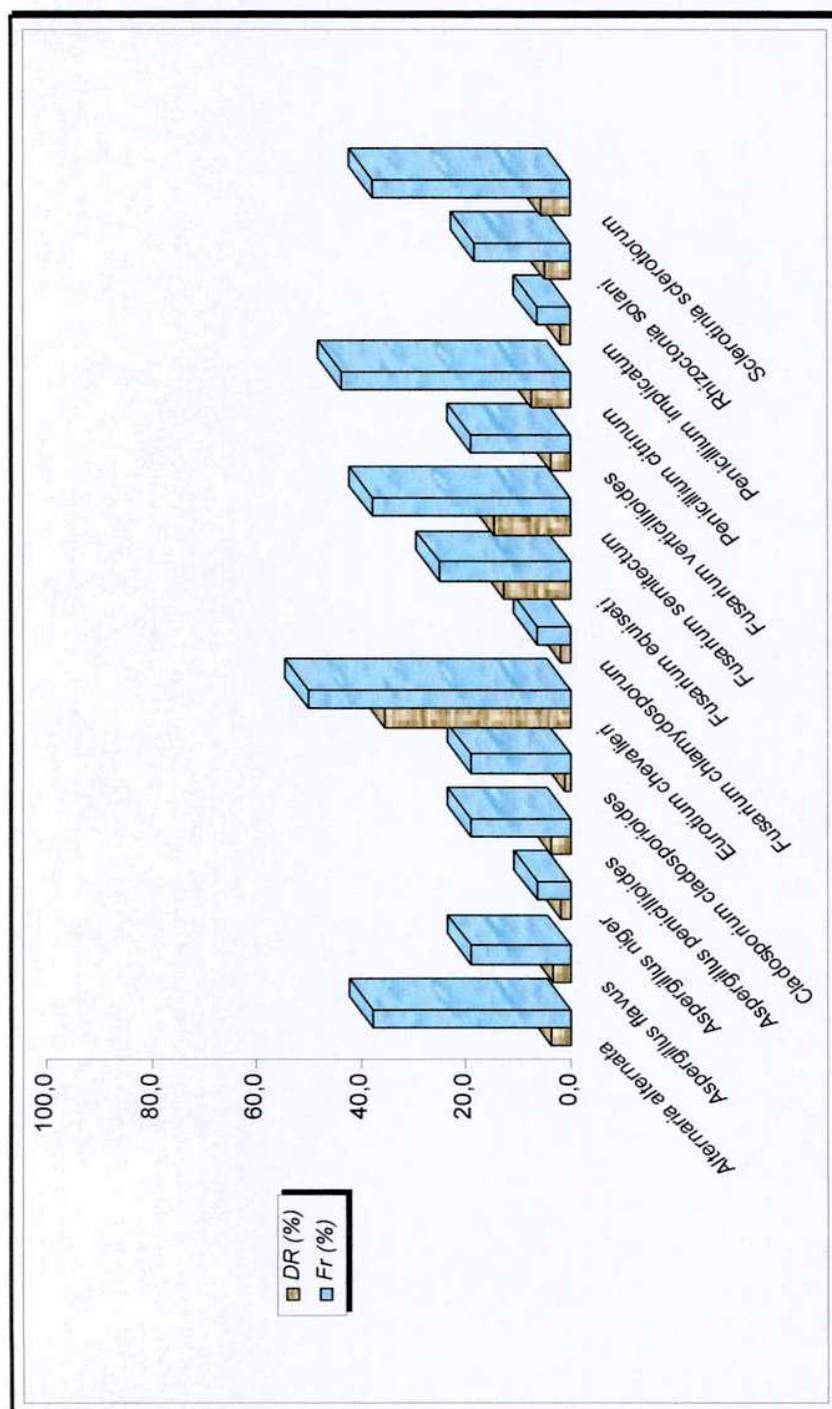


Figura 4.I.3.d. DR y Fr de las especies fúngicas aisladas de semillas de soja tratadas con fungicidas en Paraná, Provincia de Entre Ríos.

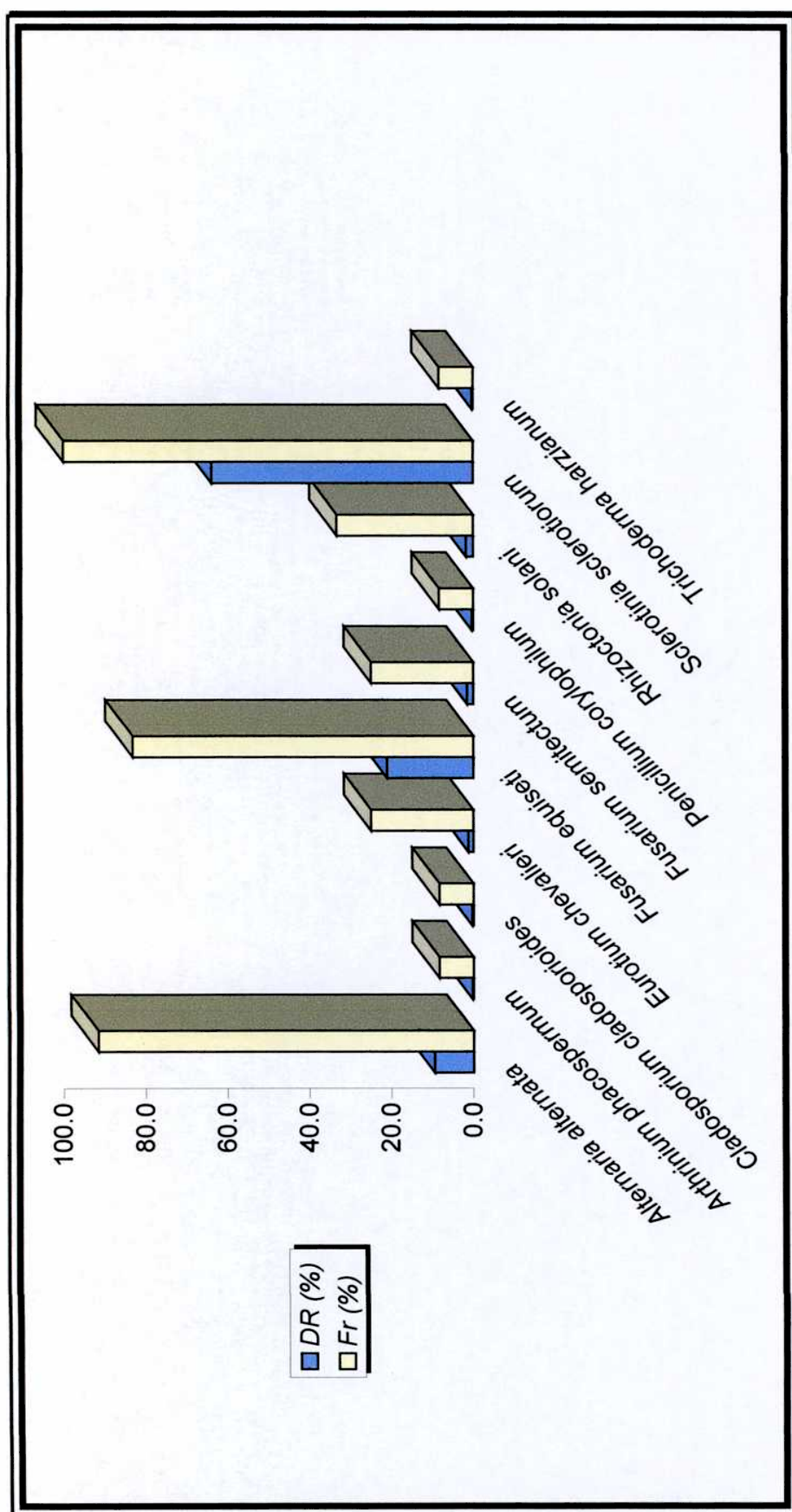


Figura 4.1.3.e. DR y Fr de las especies fúngicas aisladas de semillas de soja sin fungicidas (testigo) en Paraná, Provincia de Entre Ríos.

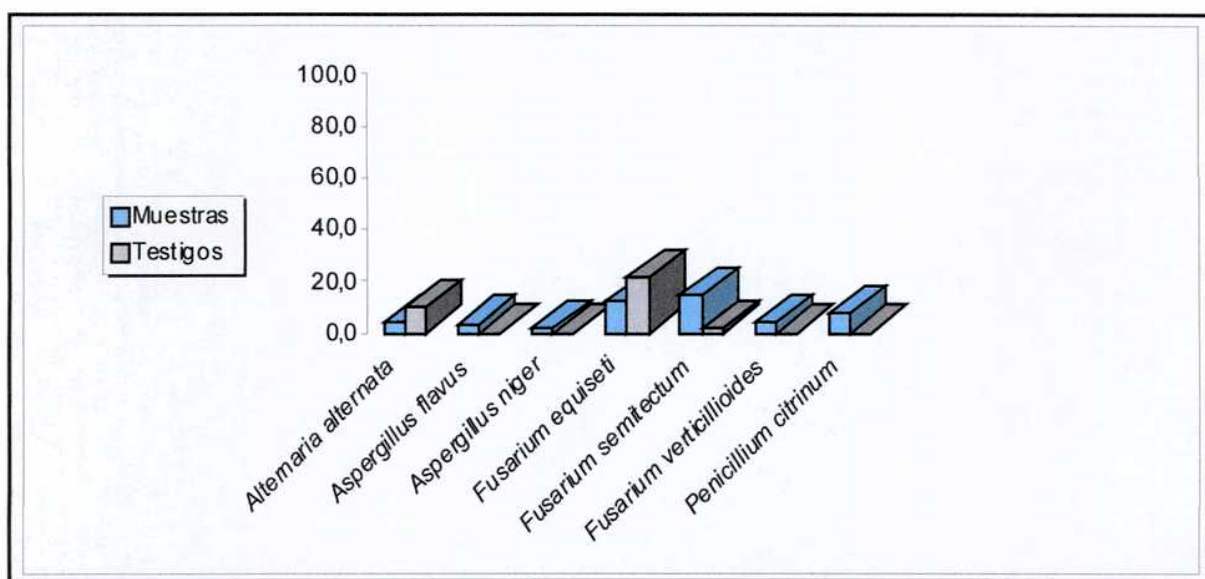


Figura 4.I.3.f. DR de las especies fúngicas potencialmente toxigénicas aisladas de semillas de soja sin fungicidas (testigos) y con fungicidas (muestras) en Paraná, Provincia de Entre Ríos.

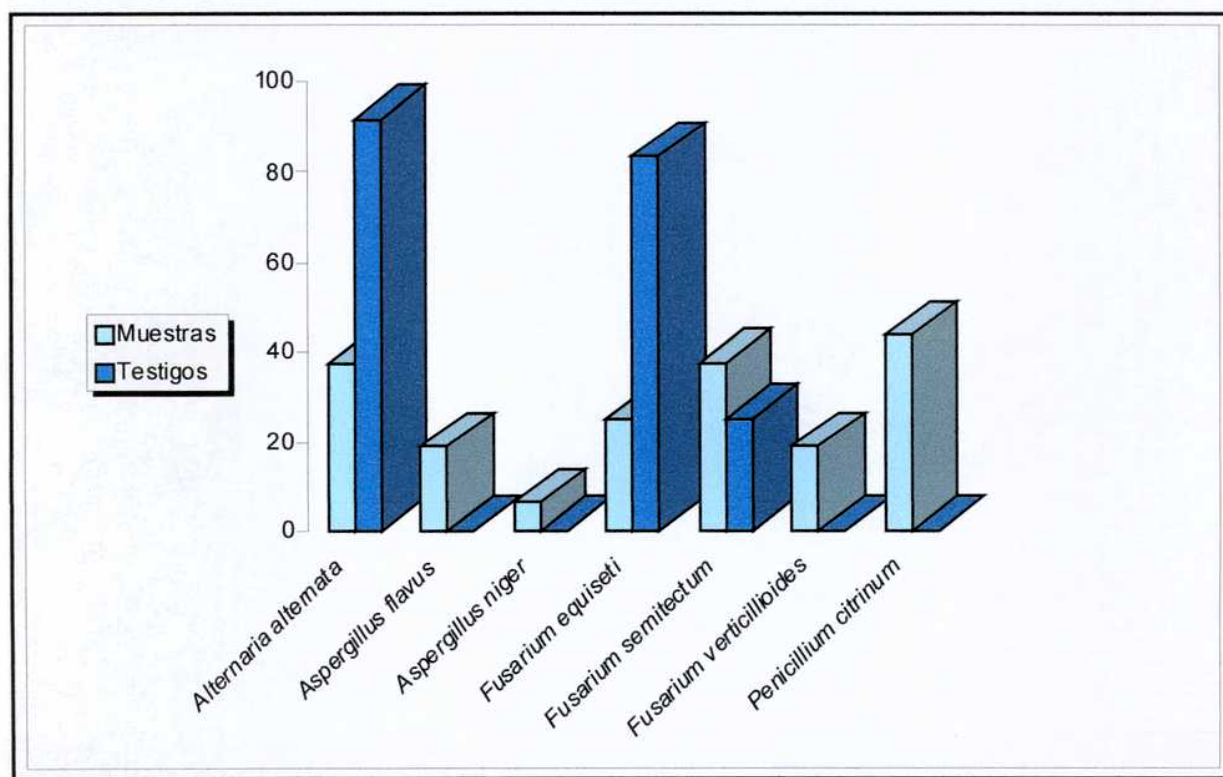


Figura 4.I.3.g. Fr de las especies fúngicas potencialmente toxigénicas aisladas de semillas de soja sin fungicidas (testigos) y con fungicidas (muestras) en Paraná, Provincia de Entre Ríos.

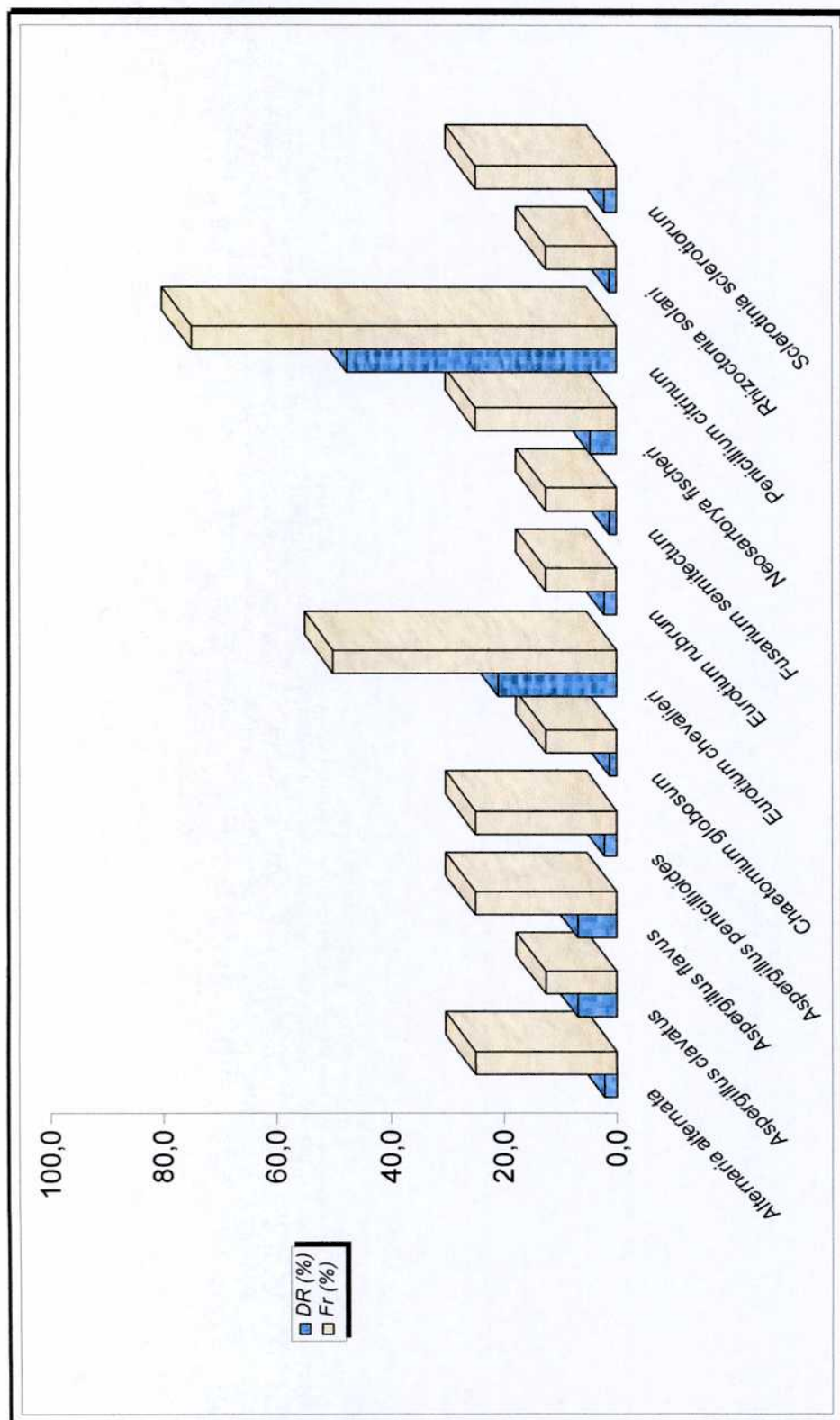


Figura 4.1.3.h. DR y Fr de las especies fúngicas aisladas de semillas de soja tratadas con fungicidas en Roque Sáenz Peña, Provincia de Chaco.

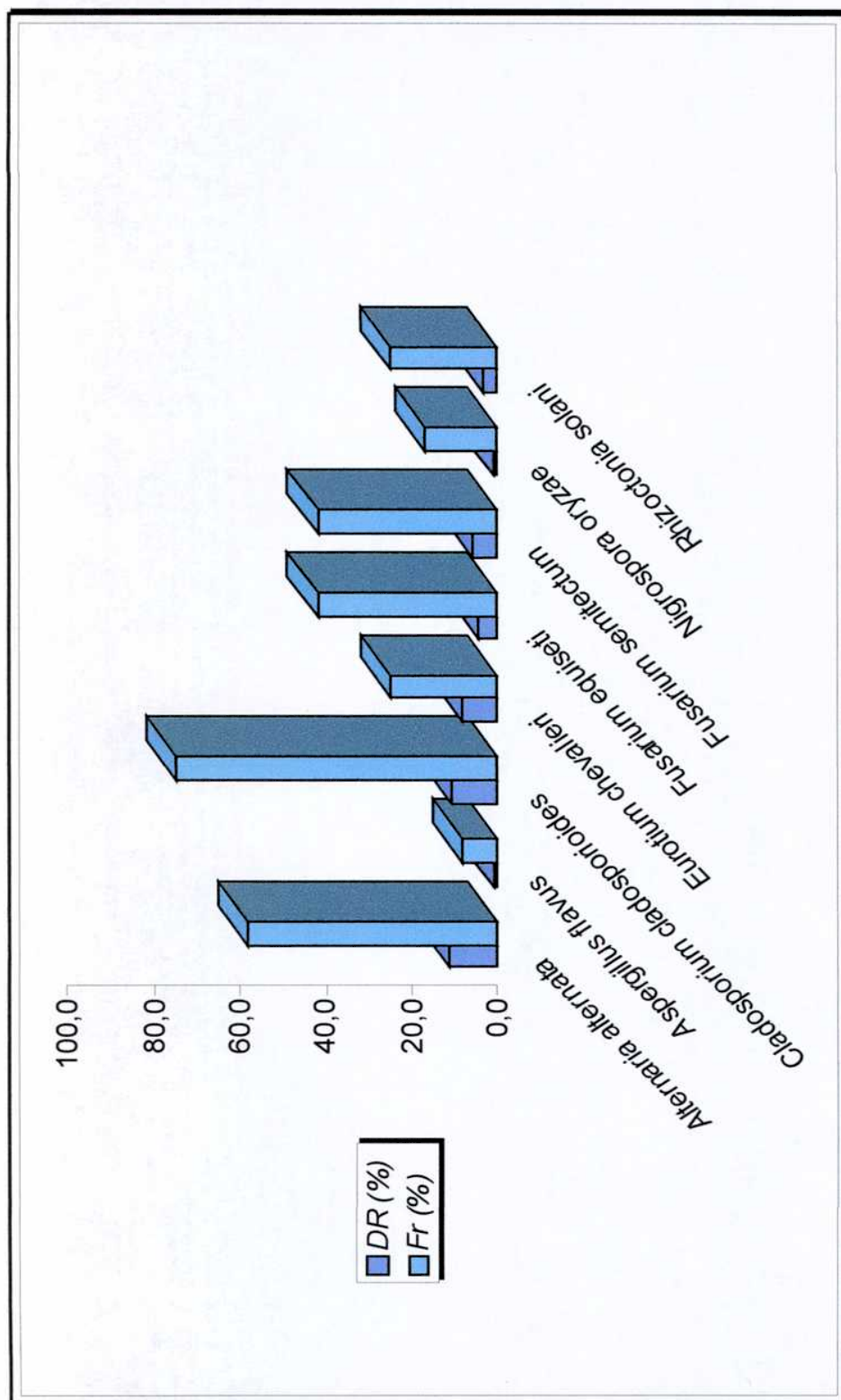


Figura 4.1.3.i. DR y Fr de las especies fúngicas aisladas de semillas de soja sin fungicidas en Roque Sáenz Peña, Provincia de Chaco.

En el análisis estadístico de la comparación de las *DR* registradas en Paraná y Roque Sáenz Peña se observaron diferencias altamente significativas ($p<0,01$) para *Fusarium semitectum* y *Penicillium citrinum* y valores significativos ($p<0,05$) para *Eurotium chevalieri* y *Rhizoctonia solani*. No se registraron diferencias ($p>0,05$) en la comparación de las *Fr* entre las dos localidades.

En las figuras **4.I.3.j.** y **k.** se muestran los valores de *DR* y *Fr* de las especies de interés micotoxigénico aisladas de muestras de semillas de soja con fungicidas y sin tratar en Roque Sáenz Peña. *A. alternata* y *F. semitectum* fueron los mohos predominantes en los testigos en relación con las muestras tratadas. Otras especies como *A. flavus* y *P. citrinum* prevalecieron en las muestras tratadas en comparación con los testigos.

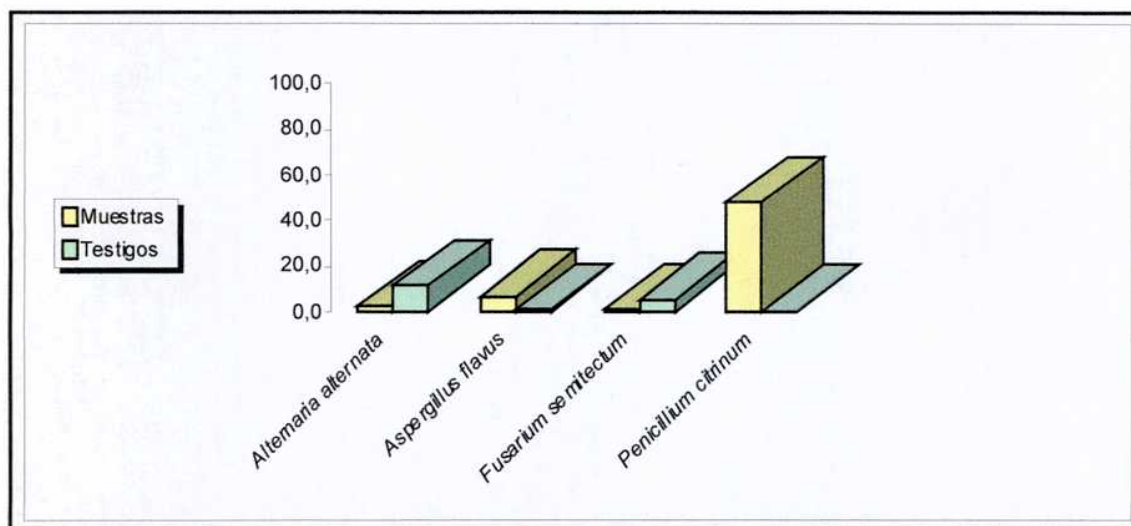


Figura 4.I.3.j. DR de las especies fúngicas potencialmente toxigénicas aisladas de semillas de soja sin fungicidas (testigos) y con fungicidas (muestras) en Roque Sáenz Peña, Provincia de Chaco.

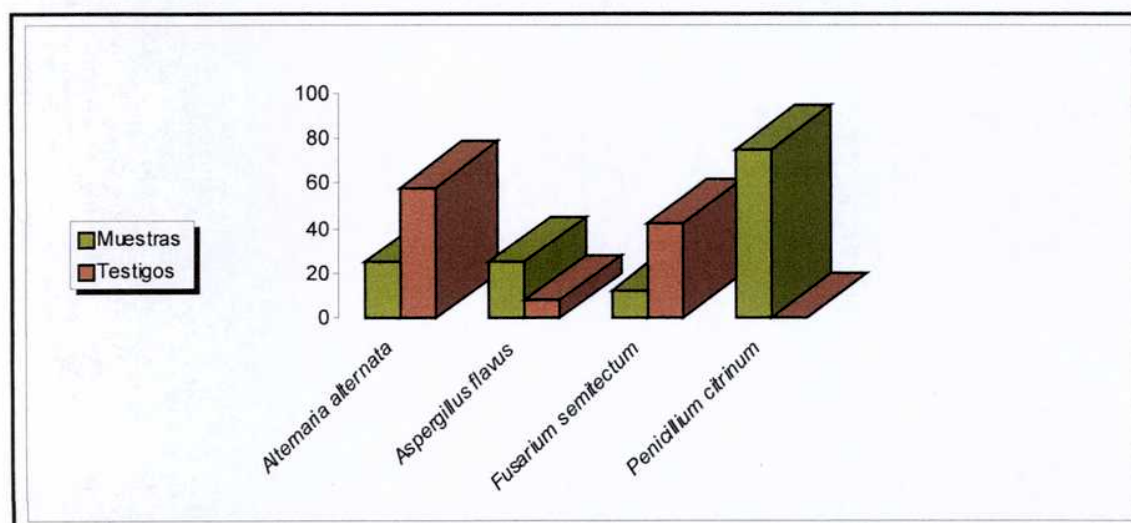


Figura 4.I.3.k. Fr de las especies fúngicas potencialmente toxigénicas aisladas de semillas de soja sin fungicidas (testigos) y con fungicidas (muestras) en Roque Sáenz Peña, Provincia de Chaco.

5.CONCLUSIONES:

5.I. Efecto de la aplicación de insecticidas en semillas de soja.

Los géneros predominantes de la micoflora aislada de muestras de semillas de soja tratadas con insecticidas en Manfredi, Provincia de Córdoba fueron: *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Phoma*, *Aspergillus*, *Trichoderma* y *Penicillium*. Las especies prevalentes fueron *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Alternaria alternata*, *Fusarium semitectum*, *Phoma glomerata*, *Aspergillus flavus*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium citrinum* y *Aspergillus niger*.

El uso de insecticidas chlorpyrifos + cypermethrin, fenitrothion y endosulfan con diferentes dosis redujo los niveles de contaminación fúngica (la mediana de las semillas infestadas varió entre 3,0 y 12,1%) en comparación con el control sin tratamiento (56%). Por este motivo sería razonable tomar en cuenta este efecto cuando se evalúa la performance de un insecticida, pues conjuntamente con el control de plagas se reduciría la incidencia de los niveles fúngicos de especies fitopatológicas y micotoxicogénicas como por ejemplo las especies de *Fusarium*, que no fueron aisladas de ninguna de las muestras tratadas con chlorpyrifos + cypermethrin en ambas dosis. Por otro lado las especies de *Aspergillus* (*A. flavus* y *A. niger*) parecen menos afectadas por las aplicaciones de estos insecticidas y este hecho podría influir en la contaminación final de la soja durante el almacenamiento, pues podría haber una probabilidad de ocurrencia de aflatoxinas, ácido cyclopiazónico y de ochratoxina A, si las cepas de *A. flavus* y *A. niger* aisladas fueran toxicogénicas. Una observación similar podría ser hecha

en el caso de *P. citrinum*, ya que esta especie es una importante productora de citrinina.

5.II. Efecto de la aplicación de glifosato en semillas de soja.

Las especies micotoxicogénicas predominantes en base a la *DR* y *Fr* aisladas de muestras de soja tratada con diferentes dosis de glifosato en Manfredi fueron: *Fusarium equiseti*, *Aspergillus flavus*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium citrinum*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium graminearum* y *Fusarium verticillioides*.

Al comparar los resultados frente al testigo sin herbicida se podría concluir que la aplicación del glifosato en las dosis mas altas, favorecería la contaminación fúngica de las semillas, esto implicaría seguir investigando y realizar nuevos ensayos en el futuro.

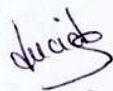
5.III. Efecto de la aplicación de fungicidas en semillas de soja.

Las especies con las mayores *DR* y *Fr* aisladas de muestras de soja tratadas con fungicidas en Paraná y Roque Sáenz Peña fueron: *Fusarium semitectum*, *Penicillium citrinum*, *Fusarium equiseti*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Eurotium chevalieri* y *Rhizoctonia solani*. Cabe destacar que las especies arriba mencionadas son potenciales productores de micotoxinas.

Los menores porcentajes de semillas infestadas se registraron en los tratamientos con SSF-126 + MKH-913+ N.Oleo* 300; Rundle 600 + 500, Pyraclostrobin (13,3%) + epoxiconazole (5%) y Tebuconazole (25%).

La aplicación de fungicidas podría favorecer la predominancia de especies de importancia micotoxigénica como *A. flavus*, *A. niger*, *F. semitectum*, *F. verticillioides* y *P. citrinum*, como se observa en Paraná. En Roque Sáenz Peña ocurriría lo mismo con *A. flavus* y *P. citrinum*.

Se debería seguir trabajando con otros fungicidas y con diferentes dosis de aplicación para determinar la posibilidad de aparición de micotoxinas.


Frusteri

Ing. Lucila M. Frusteri



Dr. Héctor H. L. González

6. BIBLIOGRAFÍA

- AACREA. Soja. Agroalimentos Argentinos (www.aacrea.gov.ar) (2.009).
- Aragón JR. Insectos perjudiciales de la soja en la región Pampeana Central. *Idia XXI: INTA* 3: 75-82 (2.002).
- Aragón JR. Insectos y ácaros perjudiciales al cultivo de la soja y sus enemigos naturales. INTA Marcos Juárez, Córdoba (2.002).
- ASA. The American Soybean Association (www.asa-europe.org) (2.005).
- Bado SG. (www.glacoxan.com/images/fichatecnica014.jpg) (2.002).
- Báez A, Zamora M, Giaccio G (2.009).
(http://www.inta.gov.ar/barrow/info/documentos/agricultura/soja/roya_soja_recopilación.htm)
- Baigorri HEJ (ed.). Reconocimiento de enfermedades, plagas, malezas y carencias nutricionales de la soja. 2da ed. INTA-EEA Marcos Juárez (2.004).
- Basf (http://www.agro.basf.com.ar/images/cat_pdf/Opera.pdf) (2.009).
- Bayer (<http://www.palabradecampo.com.ar/bayer/folicur.html>) (2.009).
- Bayer (<http://www.palabradecampo.com.ar/bayer/sphere.html>) (2.009).
- Berisford YC, Ayres JC. Effect of insecticides on growth and zearalenone (F-2) production by the fungus *Fusarium graminearum*. *Environmental Entomology* 5: 644-648 (1.976).
- Blandino M, Reyneri A. Effect of fungicide and foliar fertilizer application to winter wheat at anthesis on flag leaf senescence, grain yield, flour bread-making quality and DON contamination. *European Journal of Agronomy* 30: 275-282 (2.009).
- Belloso C. *El libro de la Soja*. Criterios en la elección de cultivares de soja, su fecha de siembra y su distancia entre surcos en distintos ambientes. E Satorre Ed., pp.41 (2.003).

- Boca RT, Pacin AM, González HHL, Resnik SL, Souza JC. Soja y micotoxinas: Flora fúngica - Variedades - Prácticas agronómicas. *Revista Aceites & Grasas* Tomo XIII, 4 (53): 510-515 (2.003).
- Bradley JV. *Distribution Free Statistical Test*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey (1.968).
- Broggi LE, González HHL, Resnik SL, Pacin AM. *Alternaria alternata* prevalence in cereal grains and soybean seeds from Entre Ríos, Argentina. *Revista Iberoamericana de Micología* 24: 47-51 (2.007).
- Cabrera MG, Alvarez RE, Raimondo MR, Cundom MA, Gutiérrez SA. Importancia de las enfermedades de fin de ciclo de la soja (*Glycine max*) en el NEA. UNNE. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas (2.004). (www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2004/5-Agrarias/A-027.pdf).
- Carmona M. Enfermedades de fin de ciclo y roya asiática de la soja. Un análisis de sus daños y el uso estratégico de fungicidas. Primera Jornada Regional de Fungicidas y Tecnología de Aplicación del Cono Sur. Rosario, pp. 49-64 (2.005).
- Conover WJ. *Practical Nonparametric Statistics*. New York: John Wiley & Sons (1.980).
- Cromey MG, Parkes RA, Sinclair KI, Lauren DR, Butler RC. Effects of fungicides applied at anthesis on *Fusarium* Head Blight and mycotoxins in wheat. *New Zealand Plant Protection* 55: 341-346 (2.002).
- Cuniberti MB, Herrero R, Baigorri H. *El cultivo de soja en la Argentina*. International Life Sciences Institute - ILSI Argentina. *Soja y nutrición*. Volumen I, pp. 6-8 (2.004).
- Dalcero A, Combina M, Etcheverry M, Chulze S, Rodríguez MI. Effect of dichlorvos on growth and mycotoxin production by *Alternaria alternata*. *Food Additives and Contaminants: Part A* 13: 315-320 (1.996).

- Devore JL. *Probability and Statistics for Engineering and the Sciences*. Monterrey, California: Brooks-Cole Publishing Company (1.987).
- Dimitri MJ. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. Tomo 1^{ero} Volumen 1, Descripción de las Plantas Cultivadas, pp. 526-527. Editorial ACME, Buenos Aires (1.980).
- D'Mello JPF, Macdonald AMC, Postel D, Dijkema WTP, Dujardin A, Placinta CM. Pesticide use and mycotoxin production in *Fusarium* and *Aspergillus* phytopathogens. *European Journal of Plant Pathology* 104: 741-751 (1.998).
- Draughon FA, Ayres JC. Insecticide inhibition of growth and patulin production by *Penicillium urticae*. *Journal of Food Science* 44: 1232-1234 (1.976).
- Draughon FA, Ayres JC. Insecticide inhibition of growth and patulin production in *Penicillium expansum*, *Penicillium urticae*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus terreus*, and *Byssoschlamys nivea*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 28: 1115-1117 (1.980).
- Draughon FA, Ayres JC. Inhibition of aflatoxin production by selected insecticides. *Applied and Environmental Microbiology* 41: 972-976 (1.981).
- Draughon FA, Elahi ME, West DR. Insecticide inhibition of aflatoxin production in corn. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 31: 692-695 (1.983).
- Dupont. Informe Técnico de Dupont-Diagnóstico y Control de la Roya de la Soja. Programa Regional Cono Sur (2.005).
- Earth Negotiations Bulletin. Summary of the Fourth Meeting of the Persistent Organic Pollutant. Review Committee of the Stockholm Convention (2.008).

- Edwards SG. Influence of agricultural practices on *Fusarium* infection of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecene mycotoxins. *Toxicology Letters* 153: 29-35 (2.004).
- El- Morshedy MMF, Aziz NH. Effects of Fenamiphos, Carbofuran, and Aldicarb on Zearalenone production by toxigenic *Fusarium* spp. contaminating roots and fruits of tomato. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, New York (1.995)
- EXTOWNET. Extension Toxicology Network. Pesticide Information Profiles. Oregon State University (1.996).
- Feng PCC, Clark C, Andrade GC, Balbi MC, Caldwell P. The control of Asian rust by glyphosate in glyphosate-resistant soybeans. *Pest Management Science* 64: 353-359 (2.008).
- Fernández Pinto VE, Vaamonde G, Brizzio SB, Apro N. Aflatoxin production in soybean varieties grown in Argentina. *Journal of Food Protection* 54: 542-545 (1.991).
- Fernández MR, Zentner RP, Basnyat P, Gehl D, Selles F, Huber D. Glyphosate associations with cereals diseases caused by *Fusarium* spp. in the Canadian prairies. *European Journal of Agronomy* 31: 133-143 (2.009).
- Folcher L, Jarry M, Weissenberger A, G rault F, Eychenne N, Delos M, Regnault-Roger C. Comparative activity of agrochemical treatments on mycotoxin levels with regard to corn borers and *Fusarium* mycoflora in maize (*Zea mays* L.) fields. *Crop Protection* 28. (2.009).
- Frusteri LM, González HHL, Zelaya MJ, Resnik .L, Pacin AM, Martínez MJ. Insecticide effect on the mycoflora of soybean RR isolated from the Pampean region in Argentina. Myco-Globe Argentine 2.006 Conference:

"Advances in research on toxigenic fungi and mycotoxins in South America ensuring food and feed safety in a myco-globe context". Carlos Paz (2.006).

- Gally M., Carmona M, Barreto D y Sugía V. *Control of soybean seedborne pathogens by foliar fungicide applications in Argentina*. 27th ISTA Congress Seed Symposium. Budapest, Hungría. (2.004).
- Gamundi JC, Perotti E, Molinari A. Evaluación de insecticidas para el control de chinches en cultivos de soja. *INTA EEA Oliveros* (2.007).
- González HHL, Resnik SL, Boca RT y Marasas WFO. *Mycoflora of Argentinean corn harvested in the main production area in 1990*. *Mycopathologia* 130: 29-36 (1.995).
- González HHL, Moltó GA, Pacin A, Resnik SL, Zelaya MJ, Masana M, Martínez EJ. *Trichothecenes and mycoflora in wheat harvested in 9 locations in Buenos Aires Province, Argentina*. *Mycopathologia* 165:105-114 (2.008).
- González HHL, Ciancio Bovier E, Whitechurch EM, Pacin AM, Resnik SL. Búsqueda de inocuidad de alimentos manufacturados con soja Libro de Actas del XII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ISBN: 978-987-22165-3-5). Facultad de Ciencias de la Alimentación, UNER, Entre Ríos (2.009).
- Hýsek J, Váňová M, Hajšlová J, Brožová J, Sychrová E, Radová-Sypecká Z, Šíp V, Sýkorová S, Chrpová J, Tvarůžek L. Variation in the production of trichothecene mycotoxin deoxynivalenol (DON) in Spring barley varieties after treatment with the fungicides azoxystrobin and tebuconazole. *Plant Protection Science* 41: 58-62 (2.005).
- Insuagro. (<http://www.insuagro.com.ar/fungicidas.htm>) (2.009).
- Ivancovich A, Botta G. *Revista de Tecnología Agropecuaria*. Divulgación Técnica del INTA Pergamino Vol. VII N°19 (2.002).

- Jacobsen BJ, Haslin KS, Swanson SP, Lambert RJ, Beasley VR, Sinclair JB, Wei LS. Occurrence of fungi and mycotoxins associated with field mold damaged soybean in the midwest. *Plant Disease* 79: 86-89 (1.995).
- Jeroch H, Drochner W, Simon O. Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, pp. 229 (1.999).
- Kantolic AG. *El libro de la Soja*. Bases funcionales de la determinación del rendimiento y manejo del cultivo de la soja. E Satorre Ed. SEMA. pp. 32-36 (2.003).
- Klich MA. *Identification of common Aspergillus species*. Baarn, Delft: Centraalbureau voor Schimmelcultures (2.002).
- Kremer RJ, Means NE. Glyphosate and glyphosate-resistant crop interactions with rhizosphere microorganisms. *European Journal of Agronomy* 31: 153-161 (2.009).
- La Nación, suplemento rural, 28 de noviembre, pág. 6 (2.009).
- La Nación, suplemento rural, 27 de febrero, pág. 10 (2.010).
- López CE. Simultaneous determination of aflatoxins, deoxynivalenol, T-2 toxin and zearalenone in Argentina soybean. Myco-Globe Argentine 2.006 Conference: "*Advances in research on toxigenic fungi and mycotoxins in South America ensuring food and feed safety in a myco-globe context*". Carlos Paz pp. 128 (2.006).
- Molina J, Carmona M, Babbitt S, Gally M, Sugía V y Grijalba P. *Effect of foliar fungicides application on soybean seed quality*. 27th ISTA Congress Seed Symposium. Budapest, Hungría. (2.004).
- Mortimer MA. *Manejo de malezas para países en desarrollo*, Cap 2. Estudio FAO Producción y Protección Vegetal (2.003).

- Nelson PE, Toussoun TA, Marasas WFO. *Fusarium species: an illustrated manual for identification*. Pennsylvania: The Pennsylvania State University Park (1.983).
- Pérez Fernández J, Figueruelo AM, Lejarraga MB. Soja: Resultados del control de enfermedades de fin de ciclo. INTA EEA Anguil. Cosecha Gruesa (2.005).
- Pirgozliev SR, Ray RV, Edwards SG, Hare MC, Jenkinson P. Effect of timing of fungicide application on the development of Fusarium Head Blight and the accumulation of deoxynivalenol (DON) in winter wheat grain. *Cereal Research Communications* 36. Akadémiai Kiadó. Budapest (2.008).
- Pitt JI and Hocking AD. *Fungi and Food Spoilage*. London-New York: Blackie Academic & Professional (1.997).
- Pollio ML, González HHL, Resnik SL. Estudio de diversos métodos de determinación de humedad para cereales y oleaginosas. *Anales de la Asociación Química Argentina* 75 (2): 135-154 (1.987).
- Ramírez C. *Manual and Atlas of the Penicillia*. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, New York (1.982).
- Richardson KE, Hagler WM, Haney CA, Hamilton PB. Zearalenone and trichothecene production in soybeans by toxigenic *Fusarium*. *Journal of Food Protection* 48: 240-243 (1.985).
- Ritchie SW. Como se desarrolla una planta de soja. Reporte Especial N° 53 (www.planetasoja.com/trabajos/trabajos800) (2.009)
- Robasco IM, Tuttolomondo G, Salinas AR, Bisaro V. Incidencia del ambiente de producción en la calidad fisiológica de la semilla de soja (*Glycine max* (L.)). Libro de actas del 3er Congreso de soja del Mercosur pp. 42-44 (2.006).

- Romero de Yasem M, Díaz CG, Ledesma F, Ferrero L, Ploper LD, Ramallo JC. Influencia de la fecha de siembra, grupo de madurez y localidad en la sanidad de semillas de soja en Tucumán, Argentina. Libro de actas del 3^{er} Congreso de soja del Mercosur pp. 507-510 (2.006).
- Roy KW, Baird RE, Abney TS. A review of soybean (*Glycine max*) seed, pod, and flower mycofloras in North America, with methods and a key for identification of selected fungi. *Mycopathologia* 150: 15–27 (2.001).
- Ruberti RS, Scandiani MM. Calidad de la semilla de soja durante el período 1.990/00 a 2.005/2.006 en el norte de la provincia de Buenos Aires. Libro de actas del 3^{er} Congreso de soja del Mercosur pp. 133-136 (2.006).
- Samson, RA, Hoekstra, ES, Frisvad JC. *Introduction to food and airborne fungi*. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Delft (2.004).
- Satorre E. *El libro de la soja*. Buenos Aires: Servicios y Marketing Agropecuario (2.003).
- Schöllenberger M, Müller HM, Rühle M, Terry-Jara H, Suchy S, Plank S, Drochner W. Natural occurrence of *Fusarium* toxins in soy food marketed in Germany. *International Journal of Food Microbiology* 113: 142-146 (2.007).
- Simmons EG. *Alternaria. An Identification Manual*. Utrecht: CBS Biodiversity Series 6 (2.007).
- Sosa MA, Gamundi JC. Control de hemípteros fitófagos en el cultivo de soja. (2.007).
- Statistix Version 7.0. *Analytical Software*. Tallahassee: Florida (2.000).
- Sylvester I. *La Soja*. (2.009)
(<http://www.monografias.com/trabajos6/laso/laso.shtml>)
- USDA. Estimates. January circular. Service Official Statistics (2.006).

- Vaamonde G, Scarmato G, Bonera N. Zearalenone production by *Fusarium* species isolated from soybeans. *International Journal of Food Microbiology* 4: 129-133 (1.987).
- Vandegrift EE, Shotwell OL, Smith ML, Hesseltine CW. Mycotoxin formation affected by fumigation of wheat. *Cereal Science Today* 18: 412-414 (1.973a).
- Vandegrift EE, Shotwell OL, Smith ML, Hesseltine CW. Mycotoxin production affected by insecticide treatment of wheat. *Cereal Chemistry* 50: 264-270 (1.973b).
- Via rural (www.viarural.com.ar). Dow agrosiences (2.009).
- Villarroel DA, Baird RE, Trevathan LE, Watson CE, Scruggs ML. *Pod and seed mycoflora on transgenic and conventional soybean [Glycine max (L.) Merrill] cultivars in Mississippi. Mycopathologia* 157: 207-215 (2.004).
- Von Arx J.A. *The genera of Fungi Sporulating in Pure Culture*. J. Cramer Press (1.981).
- Watanabe, T. *Pictorial Atlas of soil and seed fungi. Morphologies of cultured fungi and key to species*. Boca Raton: CRC Press (2.002).
- Weidenbörner, M. *Mycotoxins in feedstuffs*. New York: Springer (2.007a).
- Weidenbörner, M. *Mycotoxins in foodstuffs*. New York: Springer (2.007b).
- Wikipedia: (<http://es.wikipedia.org/wiki/Glifosato>) (2.009)
- Zelaya MJ, González HHL, Resnik SL y Martínez MJ. Contaminant mycoflora of soybean RR seeds harvested in different production areas in Argentina. Myco-Globe Argentina 2.006 Conference: "*Advances in research on toxigenic fungi and mycotoxins in South America ensuring food and feed safety in a myco-globe context*". Carlos Paz (2.006).
- Zelaya MJ, González H.L, Resnik SL, Martínez MJ. Micoflora contaminante en soja cosechada en la principal zona de producción de la República Argentina.

Libro de Actas del X Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos
(ISBN: 987-22165-1-7), Mar del Plata. Tomo V, pp. 1788-1794 (2.006).

7. ANEXOS

ANEXO I. ENSAYOS CON INSECTICIDAS

ANEXO II. ENSAYO CON GLIFOSATO

ANEXO III. ENSAYO CON FUNGICIDAS

**ANEXO I. Ensayos con insecticidas
Fenitrothion**

N° de muestras	Dosis (cc/ha)	% granos infestados	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus spp.</i>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Phoma glomerata</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
1	400	9	1	1			5	2	
2	400	6	1				2	3	
3	400	7					2	3	2
4	400	5	1					4	
5	400	1						1	
6	400	3				1	1	1	
7	400	2		1			1		
8	400	2	1						1
9	400	5			3				2
N° total de aislamientos		40	4	2	3	1	11	14	5

Fenitrothion

N° de muestras	Dosis (cc/ha)	% granos infestados	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus spp.</i>	<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Phoma glomerata</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
1	600	9				2	6	1
2	600	7					7	
3	600	12				2	7	3
4	600	10			1		5	4
5	600	5				3	1	1
6	600	6					5	1
7	600	3						3
8	600	4	2	2				
9	600	7	4	2				1
N° total de aislamientos		63	6	4	1	7	31	14

Chlorpyrifos + cypermethrin

N° de muestras	Dosis (cc/ha)	% granos infestados	Alternaria alternata	Aspergillus niger	Fusarium spp.	Paecilomyces variotii	Penicillium citrinum	Phoma glomerata	Phoma sorghina	Rhizoctonia solani	Sclerotinia sclerotiorum	Trichoderma harzianum
1	550	69	4	57		2	1			5		
2	550	34	3			3	4		1	3		20
3	550	31		2		12	2			1		14
4	550	10						1		6	3	
5	550	27						2		9	16	
6	550	12	2							4	6	
7	550	10	2							2	6	
8	550	6	2							3	1	
9	550	3			3							
N° total de aislamientos		202	13	59	3	17	7	3	1	33	32	34

Chlorpyrifos + cypermethrin

N° de muestras	Dosis (cc/ha)	% granos infestados	Alternaria alternata	Aspergillus flavus	Aspergillus niger	Aspergillus spp.	Penicillium citrinum	Rhizoctonia solani	Sclerotinia sclerotiorum	Trichoderma harzianum
1	750	32					1	2	6	23
2	750	25			1			1	9	14
3	750	4						4		
4	750	0								
5	750	5		1				4		
6	750	6	2					2	2	
7	750	5	2						3	
8	750	2	1						1	
9	750	5		3		1			1	
N° total de aislamientos		84	5	4	1	1	1	13	22	37

Endosulfan

N° de muestras	Dosis cc/ha	% de granos infestados	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus ustus</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Nigrospora oryzae</i>	<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Phoma glomerata</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>
1	1200	28									3		25
2	1200	10	2	1						1	5	1	
3	1200	14								1	6	7	
4	1200	2	1					1					
5	1200	9					7				2		
6	1200	11		1	1						8		
7	1200	11	3						1		4	3	
8	1200	3	3										
9	1200	1	1										
N° total de aislamientos		89	10	2	1	1	7	1	1	2	28	11	25

Endosulfan

N° de muestras	Dosis cc/ha	% de granos infestados	<i>Acremonium strictum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Fusarium spp.</i>	<i>Paecilomyces variotii</i>	<i>Penicillium citrinum</i>
1	1500	38	1	8		1	13		2	1
2	1500	11		3						
3	1500	14					1			
4	1500	12		5	1					
5	1500	5		1			1			
6	1500	4								
7	1500	2								1
8	1500	0								
9	1500	27		2				1		
N° total de aislamientos		113	1	19	1	1	15	1	2	2

Continúa en la página siguiente.

Endosulfan, continuación

N° de muestras	Dosis cc/ha	% de granos infestados	<i>Penicillium corylophilum</i>	<i>Phoma glomerata</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
1	1500	38	6		6	
2	1500	11		3	4	1
3	1500	14		1	9	3
4	1500	12				6
5	1500	5			3	
6	1500	4			4	
7	1500	2				1
8	1500	0				
9	1500	27		21		3
N° total de aislamientos		113	6	25	26	14

ANEXO I. Ensayo control sin insecticida

N° de muestras	% de granos infestados	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus niveus</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Eurotium chevalieri</i>	<i>Fusarium equiseti</i>	<i>Fusarium graminearum</i>	<i>Fusarium proliferatum</i>
1	56	7	8	5	2		6			
2	47	1	4			11		5		
3	72	3				1		18	5	
4	18	4				1				
5	48	5			1		1			1
6	86	15	4	5					1	
7	70	8		1					1	
8	67	15				2		24		1
9	23	2	6	3	6		1			
N° total de aislamientos		60	22	16	9	15	8	47	7	2

N° de muestras	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Fusarium verticillioides</i>	<i>Penicillium implicatum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Ulocladium botrytis</i>
1	12	1	1	14				
2	12			5	4			2
3	8			25	11		1	
4			1	4	7			1
5	25	2	1	10				
6	55			2	3		1	
7	10			44	5		1	
8	11				9	2	2	1
9	1	1	1	2				
N° total de aislamientos	134	4	4	106	39	2	5	4

ANEXO II. Ensayo 1 con glifosato

N° muestras	Tratamiento (L ha ⁻¹ glifosato)	% de granos infestados	<i>Acromonium strictum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus candidus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus penicillioides</i>	<i>Fusarium avenaceum</i>	<i>Fusarium equiseti</i>	<i>Fusarium graminearum</i>
1	1,0 L	78	59	1		18					
2		67	50			14			1		
3		19	6			13					
4	2,0 L	43	14			28					
5		90	76			12					
6		93	25		1	36					
7	3,0 L	20	1	1		18					
8		47	1	1		3	2	2	1	29	
9		48		1						39	1
10	4,0 L	10								4	
11		71		2		3	1	1		57	
12		98		1		4				84	
13	5,0 L	98				2				89	
14		80				2		1		70	
15		22		1		12		1		2	
16	6,0 L	87		1		4		1		73	
17		74		1		4				61	
18		62		2		1				53	
19	10,0 L	28				1				22	
20		68				2		1		58	
21		15				12		1		1	
22	15,0 L	64		1		2				54	
23		96								92	
24		22	1			10		6			
N° total de aislamientos		1400	233	13	1	201	3	14	2	788	1

Continúa en la página siguiente.

ANEXO II. Ensayo 1 con glifosato (continuación)

N° muestras	Tratamiento (L ha ⁻¹ glifosato)	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Fusarium verticillioides</i>	<i>Mucor racemosus</i>	<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
1	1,0 L						
2					2		
3							
4	2,0 L				1		
5					2		
6				31			
7	3,0 L						
8							8
9		1					6
10	4,0 L						6
11							7
12							9
13	5,0 L						7
14							7
15							6
16	6,0 L						8
17							8
18							6
19	10,0 L						5
20							7
21			1				
22	15,0 L ha ⁻¹ glifosato						7
23							4
24						5	
N° total de aislamientos		1	1	31	5	5	101

ANEXO II. Ensayo 2 con glifosato

N° muestras	Tratamiento (L ha-1 glifosato)	% de granos infestado	<i>Acremonium strictum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus candidus</i>	<i>Aspergillus clavatus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus penicillioides</i>	<i>Aspergillus ustus</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>
1	1re Epoca 1,5 L	26		1			9	1	2		
2	2da Epoca 1,5 L	66	39				6		5		
3	3ra Epoca	16			6		4	1			
4	1re Epoca 1,5 L	13			7		2				
5	2da Epoca 1,5 L	6					2				
6	3ra Epoca 2,0 L	6			2						
7	1re Epoca 3,0 L	54			1		2				
8	2da Epoca 2,5 L	25		1	1		13				
9	3ra Epoca	25		1	10		6				
10	1re Epoca 2,5 L	41			3						
11	2da Epoca 1,5 L	30		1	10		2	1			
12	3ra Epoca 2,5 L	21			5		3		11		
13	1re Epoca 3,0 L	27			4		2		1		
14	2da Epoca 3,0 L	23			3		4				
15	3ra Epoca	11				4	6				
16	1re Epoca 3,0 L	19				10	5				
17	2da Epoca 2,0 L	35		2		5	26			1	
18	3ra Epoca 2,0 L	34				3	28				
19	1re Epoca 4,0 L	29				2	15	2			1
20	2da Epoca 3,5 L	19		1		9	5				
21	3ra Epoca	17				4				5	
22	1re Epoca 5 L	12		2		8	2				
23	2da Epoca 4 L	14				3	11				
24	3ra Epoca 3 L	6				3					1
25	2da Epoca 1,5 L	13		1		4	2				
26	3ra Epoca	1				1					
N° total de aislamientos		589	39	10	52	56	155	5	19	6	2

Continúa en la página siguiente.

ANEXO II. Ensayo 2 con glifosato (continuación)

N° muestras	Tratamiento (L ha-1 glifosato)	<i>Eurotium chevalieri</i>	<i>Fusarium chlamydosporum</i>	<i>Fusarium equiseti</i>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Neosartorya fischeri</i>	<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Penicillium implicatum</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>
1	1re Epoca 1,5 L									13	
2	2da Epoca 1,5 L									16	
3	3ra Epoca									5	
4	1re Epoca 1,5 L							3		1	
5	2da Epoca 1,5 L			1						3	
6	3ra Epoca 2,0 L									4	
7	1re Epoca 3,0 L			47				1		3	
8	2da Epoca 2,5 L			2	3					5	
9	3ra Epoca							2		6	
10	1re Epoca 2,5 L			1					24	1	12
11	2da Epoca 1,5 L			13				1		2	
12	3ra Epoca 2,5 L									2	
13	1re Epoca 3,0 L			9						11	
14	2da Epoca 3,0 L			1				1		14	
15	3ra Epoca	1									
16	1re Epoca 3,0 L		1					2			1
17	2da Epoca 2,0 L		1								
18	3ra Epoca 2,0 L		1					2			
19	1re Epoca 4,0 L	1			8						
20	2da Epoca 3,5 L	1	3								
21	3ra Epoca	3						5			
22	1re Epoca 5 L										
23	2da Epoca 4 L										
24	3ra Epoca 3 L						2				
25	2da Epoca 1,5 L					4				2	
26	3ra Epoca										
N° total de aislamientos		6	6	74	11	4	2	17	24	88	13

ANEXO II. Ensayo sin glifosato

N° de muestras	% de granos infestados	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus niveus</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Eurotium chevalieri</i>	<i>Fusarium equiseti</i>	<i>Fusarium graminearum</i>
1	49	2	46				1		
2	60	12				14			
3	56	8				8			
4	62		40	3					
5	61	7	28		2				
6	23		14		6				
7	57	14				4		30	
8	28	12				1		12	2
9	37	14				4		19	
10	46	16				4		2	
N° total de aislamientos	479	85	128	3	8	35	1	63	2

N° de muestras	<i>Fusarium verticillioides</i>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Penicillium implicatum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Ulocladium botrytis</i>
1								
2					18	15	1	
3					14	21	5	
4	1		1	17				
5				24				
6			1	2				
7					5			4
8					1			
9								
10		24						
N° total de aislamientos	1	24	2	43	38	36	6	4

**Anexo III. Ensayo con fungicidas
En Roque Sáenz Peña, Provincia de Chaco**

N° muestras	Producto comercial	Dosis (cc/ha)	% granos infestados	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus clavatus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus penicillioides</i>	<i>Chaetomium spp.</i>
1	Folicur	800	2					
2	Opera	1000	8			1		
3	Folicur	400	17	1	6	5		1
4	Opera	500	27					
5	Folicur	400	20				1	
6	Opera	500	2					
7	Folicur	400	4	1			1	
8	Opera	500	6					
N° total de aislamientos			86	2	6	6	2	1

N° muestra	Producto comercial	Dosis (cc/ha)	<i>Eurotium chevalieri</i>	<i>Eurotium rubrum</i>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Neosartorya fischeri</i>	<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
1	Folicur	800					2		
2	Opera	1000				1	6		
3	Folicur	400				3		1	
4	Opera	500	12	2	1		12		
5	Folicur	400	2				17		
6	Opera	500					1		1
7	Folicur	400	1						1
8	Opera	500	3				3		
N° total de aislamientos			18	2	1	4	41	1	2

**Ensayo sin fungicidas
En Roque Sáenz Peña, Provincia de Chaco**

N° de muestras	% granos infestados	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Eurotium chevalieri</i>	<i>Fusarium equiseti</i>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Nigrospora oryzae</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
1	33	1		1	10	2				19
2	10			3					7	
3	49				12		2			35
4	27	2		1	3		3			18
5	23		3	2		4	6		1	7
6	27	1		3		1				22
7	44	3		8		5	3	2		23
8	7			1						6
9	17	1				1				15
10	46	25		11					2	8
11	13	1					3	1		8
12	7			2						5
N° total de aislamientos	303	34	3	32	25	13	17	3	10	166

**Ensayo con fungicidas
En Paraná, Provincia de Entre Ríos**

Tratamiento	Nº de muestras	% granos infestados	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus penicillioides</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Eurotium chevalieri</i>
Rundle 600 (parte I) + 500 (parte II)	1	3						
SSF-126 + MKH-913 + N. Oleo*300 + 175	2	9	2					
SPHERE 300 300+175	3	5	1					1
Rundle 600 (parte I) + 500 (parte II)	4	9						1
SSF-126 + MKH-913 + N. Oleo*300 + 175	5	2						
SPHERE 300 300+175	6	17			5	6		2
SSF-126 + MKH-913 + N. Oleo*300 + 175	7	3		2				
Rundle 600 (parte I) + 500 (parte II)	8	20				3		
SPHERE 300 300+175	9	48	1	1		1		34
Rundle 600 (parte I) + 500 (parte II)	10	83						52
SPHERE 300 300+175	11	21	2					2
SSF-126 + MKH-913 + N. Oleo*300 + 175	12	19	1	6				4
Nº total de aislamientos		239	7	9	5	10	1	96

Continúa en la página siguiente.

**Ensayo con fungicidas
En Paraná, Provincia de Entre Ríos (continuación)**

Tratamiento	N° de muestras	<i>Fusarium equiseti</i>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Fusarium verticillioides</i>	<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Penicillium implicatum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Rundle 600 (parte I) + 500 (parte II)	1				1			2
SSF-126 + MKH-913 + N. Oleo*300 + 175	2				7			
SPHERE 300 300+175	3				1			2
Rundle 600 (parte I) + 500 (parte II)	4				8			
SSF-126 + MKH-913 + N. Oleo*300 + 175	5				1			1
SPHERE 300 300+175	6		4					
SSF-126 + MKH-913 + N. Oleo*300 + 175	7		1					
Rundle 600 (parte I) + 500 (parte II)	8		11		1	5		
SPHERE 300 300+175	9		10					
Rundle 600 (parte I) + 500 (parte II)	10	12	2	1			9	7
SPHERE 300 300+175	11	7		6			2	2
SSF-126 + MKH-913 + N. Oleo*300 + 175	12	8						
N° total de aislamientos		27	28	7	19	5	11	14

**Ensayo sin fungicidas
En Paraná, Provincia de Entre Ríos**

N° de muestras	% granos infestados	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Arthrinium phacospermum</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Eurotium chevalieri</i>	<i>Fusarium equiseti</i>	<i>Fusarium semitectum</i>	<i>Penicillium corylophilum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Trichoderma harzianum</i>
1	39	4				13			4	18	
2	99	1				36				62	
3	67	18				17	2			30	
4	14					7				6	1
5	19	2				5			1	11	
6	19	2			1	3				13	
7	22	4					2		2	14	
8	11	1			1	1				8	
9	80	1	1			8				70	
10	78	7			5	10	5			51	
11	96	12				24				60	
12	43	4		2				2	3	32	
N° total de aislamientos	587	56	1	2	7	124	9	2	10	375	1