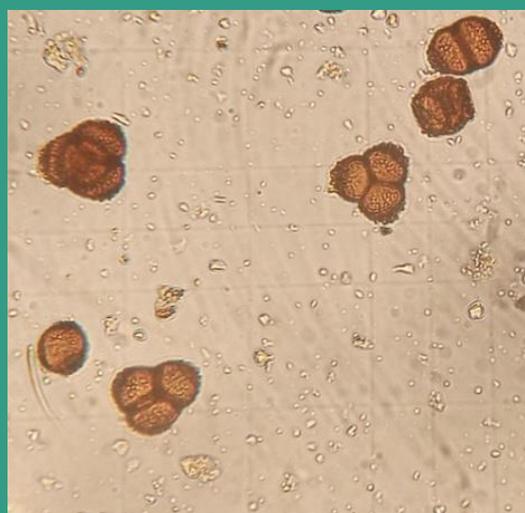


# RELEVAMIENTO DEL CARBÓN DEL MANÍ: INÓCULO E INTENSIDAD DE LA ENFERMEDAD, CAMPAÑA 2020-21

Bernardi Lima, N., Alcalá, R., Brandimarte, S., Monetti, M. Toledo, M.,  
Canale, A., Paredes, J.A., Pérez, I.A., Rago, A., Margonari, V., Conforto, C.



# RELEVAMIENTO DEL CARBÓN DEL MANÍ: INÓCULO E INTENSIDAD DE LA ENFERMEDAD, CAMPAÑA 2020-21

Bernardi Lima, N.<sup>1,2,3</sup>, Alcalá, R.<sup>1</sup>, Brandimarte, S.<sup>1</sup>, Monetti, M.<sup>4</sup>, Toledo, M.<sup>5</sup>, Canale, A.<sup>5</sup>, Paredes, J.A.<sup>1,2</sup>, Pérez, I.A.<sup>1</sup>, Rago, A.<sup>6,7</sup>, Margonari, V.<sup>8</sup>, Conforto, C.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> IPAVE-CIAP-INTA, <sup>2</sup>UFYMA-CONICET, <sup>3</sup>FCA-UNCA, <sup>4</sup>AER General Cabrera-INTA, <sup>5</sup>AER Río Cuarto-INTA, <sup>6</sup>Facultad de Agronomía y Veterinaria, UNRC, <sup>7</sup>CIAP-INTA, <sup>8</sup>AER Jesús María-INTA.  
conforto.cinthia@inta.gob.ar

## INTRODUCCIÓN

En el contexto de un Proyecto Local de INTA (PL328), un Proyecto disciplinario de INTA (I081) y un Convenio de Asistencia Técnica con la Fundación Maní Argentino, se trabajó articulando extensión e investigación para generar información útil, con la finalidad de fortalecer una economía regional clave para la provincia de Córdoba, como es la del maní, con el objetivo de mitigar el impacto de la enfermedad del carbón, causada por *Thecaphora frezii*.

La Argentina es uno de los principales productores y exportadores de maní (*Arachis hypogaea* L.), concentrándose la mayor superficie sembrada en la provincia de Córdoba (Marinelli et al., 2008). Actualmente, se considera un verdadero complejo agroalimentario con perfil regional, que articula las distintas etapas del proceso productivo primario, la industrialización de la materia prima, su comercialización y exportación (Fernandez y Giayetto, 2017).

Entre los principales factores limitantes del cultivo se encuentran las enfermedades de origen fúngico. El carbón del maní, es actualmente la enfermedad más importante en él cultivo, fue detectada por primera vez en la campaña 1994/95 en lotes comerciales de los cultivares Florunner y Colorado Irradiado INTA (Marinelli et al., 1995). Las teliosporas que son las estructuras de resistencia de *T. frezii* permanecen en el suelo afectando las vainas, transformando las semillas en una masa carbonosa de esporas (Fig. 1). La dispersión de las teliosporas ocurre principalmente por la semilla, el viento y la maquinaria, e incluso en la etapa de arrancado y cosecha una gran cantidad de teliosporas pueden ser liberadas e incorporadas en los primeros centímetros del suelo (Rago et al., 2017, Monguillot et al., 2021). Relevamientos realizados en las últimas campañas agrícolas en lotes productivos, registran un incremento de la incidencia de la enfermedad desde su detección, alcanzando valores cercanos al 35 % (Paredes et al., 2019).

El carbón del maní es una enfermedad monocíclica, es decir que no se genera inóculo secundario que reinfecte al hospedante en la misma campaña, esto implica que la intensidad de la enfermedad dependa en gran parte del inóculo inicial presente en el suelo, al momento de la siembra (Oddino et al., 2010). Esto explica por qué la selección

de lotes con baja densidad de inóculo al momento de implantación del cultivo es una estrategia básica y preventiva de gran impacto en el manejo de la enfermedad. Monitorear el avance del patógeno mediante la cuantificación de inóculo, la severidad e incidencia en la zona de producción, permitirá reducir pérdidas y el incremento de la intensidad de la enfermedad.

Por todo lo expuesto nos planteamos como objetivo contar con metodologías eficientes y sensibles para la cuantificación de inóculo de *T. frezii*, a partir de muestras de suelo y evaluar la intensidad de la enfermedad en lotes del área de producción.



Figura 1. Vainas de maní afectadas por *T. frezii* generando una masa carbonosa de teliosporas.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

**Muestras de suelo:** el muestreo se realizó en unidades productivas no mayores a 150 ha. Se colectaron seis muestras compuestas por 15 submuestras, en tres zonas diferentes del lote. Se utilizó un barreno de 2,5 cm de diámetro y de 5 cm de profundidad, con una separación de aproximadamente 5-10 metros cada punto de muestreo, siguiendo un diseño en diagonal. Cada muestra fue georeferenciada. El período de muestreo fue previo a la cosecha, de enero a mayo de 2021. Las muestras fueron identificadas y llevadas al IPAVE hasta su procesamiento. Una vez en el laboratorio, cada muestra fue secada a temperatura ambiente, tamizada y cuarteada hasta obtener un peso aproximado de 2 g (Fig. 2A, B y C). Las muestras se conservaron a -20 °C hasta su procesamiento.



Figura 2. A. Muestreo de suelo a 5 cm de profundidad utilizando sacabocado B. muestras de suelo en proceso de secado a temperatura ambiente C. conservación de 2 g de muestra de suelo luego del procesamiento (secado, tamizado, cuarteado).

Para validar la técnica molecular de qPCR propuesta para la cuantificación de teliosporas, utilizamos como técnica alternativa la cámara de Neubauer, realizando inoculaciones artificiales de muestras de suelo estéril, con concentraciones conocidas de teliosporas (0,0002, 0,001, 0,002, 0,01, 0,02, 0,1, 0,2 gramos de teliosporas por gramo de suelo). Se realizaron 6 conteos por cada concentración. Estos valores conocidos de teliosporas, se utilizaron para elaborar una curva de referencia de la cantidad de inóculo por gramo de suelo.

Para la técnica de qPCR se elaboró también una curva patrón utilizando las mismas muestras inoculadas que se analizaron por la cámara de Neubauer. Esta nueva curva patrón nos permitió conocer los valores mínimos y máximos de esporas por gramo de suelo en las muestras de campo. La concentración de inóculo de cada muestra de suelo de campo se calculó a partir de la curva patrón del qPCR y la curva obtenida por la cámara de Neubauer. Para el análisis de las muestras de suelo de campo, se realizó una extracción de ADN utilizando un Kit de extracción de suelo, partiendo de 0,5 g de suelo. En la reacción de qPCR se utilizaron iniciadores específicos con las siguientes secuencias TF-2F (5'ATGTCAAAGAGTGCGAAGAC3') y TF-2R (5'TATCTTGCTGGTAGGCTGTT3'), y las siguientes condiciones de amplificación 35 ciclos de 95 °C por 1 min, 56 °C por 1 min y 72 °C por 1 min (Cazón et al., 2016, Bernardi Lima et al., 2021). Cada muestra fue analizada por triplicado.

Para determinar la incidencia y severidad se realizaron muestreos de planta en los mismos lotes en los que se tomaron las muestras de suelo. De cada lote se tomaron 6 muestras luego de haberse invertido el lote y antes de la trilla, siguiendo un trazado en diagonal, separada cada estación de muestreo aproximadamente 30-50 metros. De

cada punto de muestreo se tomaron la totalidad de las plantas de 1,43 metro lineal (correspondientes a 1 m<sup>2</sup>), las muestras se llevaron al IPAVE en bolsas cebolleras para su procesamiento. La intensidad de la enfermedad fue estimada a través de la incidencia (porcentaje de cajas afectadas) y severidad (según escala de 0-4, que considera la proporción de afectación de vainas) (Paredes et al., 2016, 2017) (Fig. 3 A y B).



Figura 3. A. Muestras de planta en bolsas cebolleras B. Escala según grados de severidad para el carbón del maní, donde cada número indica el grado de severidad de la enfermedad.

## RESULTADOS

En todas las concentraciones utilizadas para elaborar la curva patrón por la técnica de qPCR fue posible detectar teliosporas de *T. frezii*, obteniendo valores de CT que variaron de entre 11,53 y 31,76. La correlación entre el CT y el log de las concentraciones fue lineal y significativa con un valor de R<sup>2</sup> de 0,98. La eficiencia de los iniciadores utilizados fue del 100%. Entre la curva obtenida a partir del conteo por cámara e Neubauer y la curva patrón de qPCR se generó una curva logarítmica, con un coeficiente de determinación de R<sup>2</sup> = 0,9185 (Fig. 4).

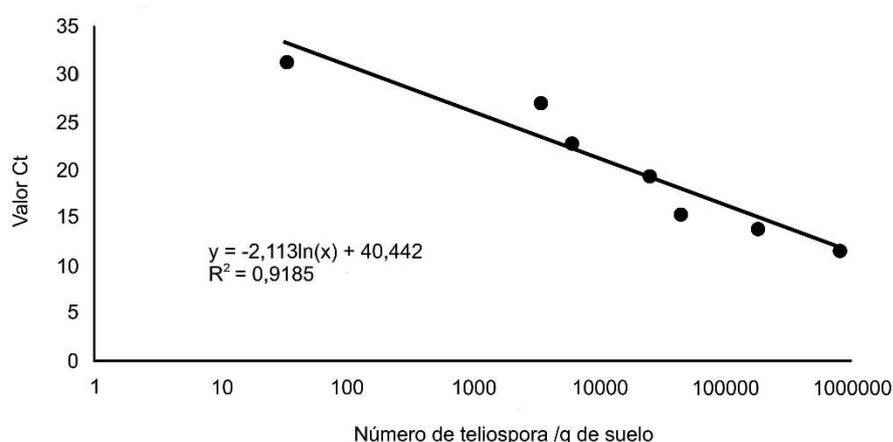


Figura 4. Relación entre el Valor Ct obtenido por la técnica de qPCR y el número de teliosporas resultante del conteo en cámara de Neubauer

Los muestreos se realizaron en lotes de la provincia de Córdoba, Santa Fe, La Pampa y Buenos Aires. En total se colectaron y analizaron 420 muestras de suelo (6 muestras x 70 lotes). Para los análisis se utilizaron las medias provenientes de los valores de inóculo de las 6 muestras por lote. Los valores de inóculo variaron entre 30 a 1172 teliosporas/g de suelo para lotes de la provincia de Córdoba, entre 254 a 2138 teliosporas/g de suelo para lotes de la provincia de Santa Fe, 383 a 1784 teliosporas/g de suelo para lotes de la provincia de la Pampa y 84 a 2319 teliosporas/g de suelo para lotes de la provincia de Buenos Aires (Fig. 5).

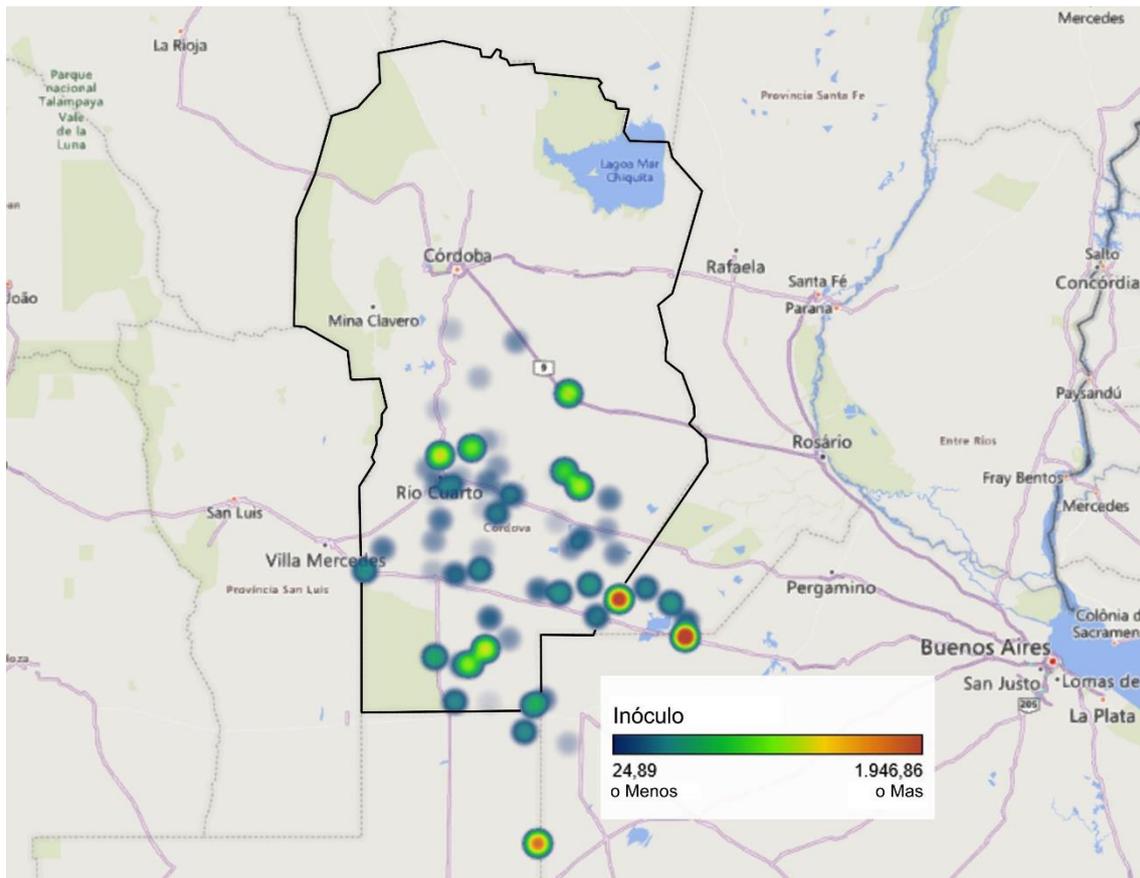


Figura 5. Localización de lotes muestreados y densidad de inóculo de *Thecaphora frezii*.

En relación a la intensidad de la enfermedad, los valores de incidencia variaron para Córdoba entre 0,23 y 39,57, el índice de severidad entre 0,18 y 29,76; para Santa Fe de 0 a 0,36 la incidencia y 0 a 0,04 para el índice de severidad; para La Pampa la incidencia varió de 0 a 1,66 y la severidad de 0 a 1,11; para Buenos Aires 0 a 2,23 de incidencia y 0 a 1,40 para el índice de severidad (Fig. 6 y Fig. 7).

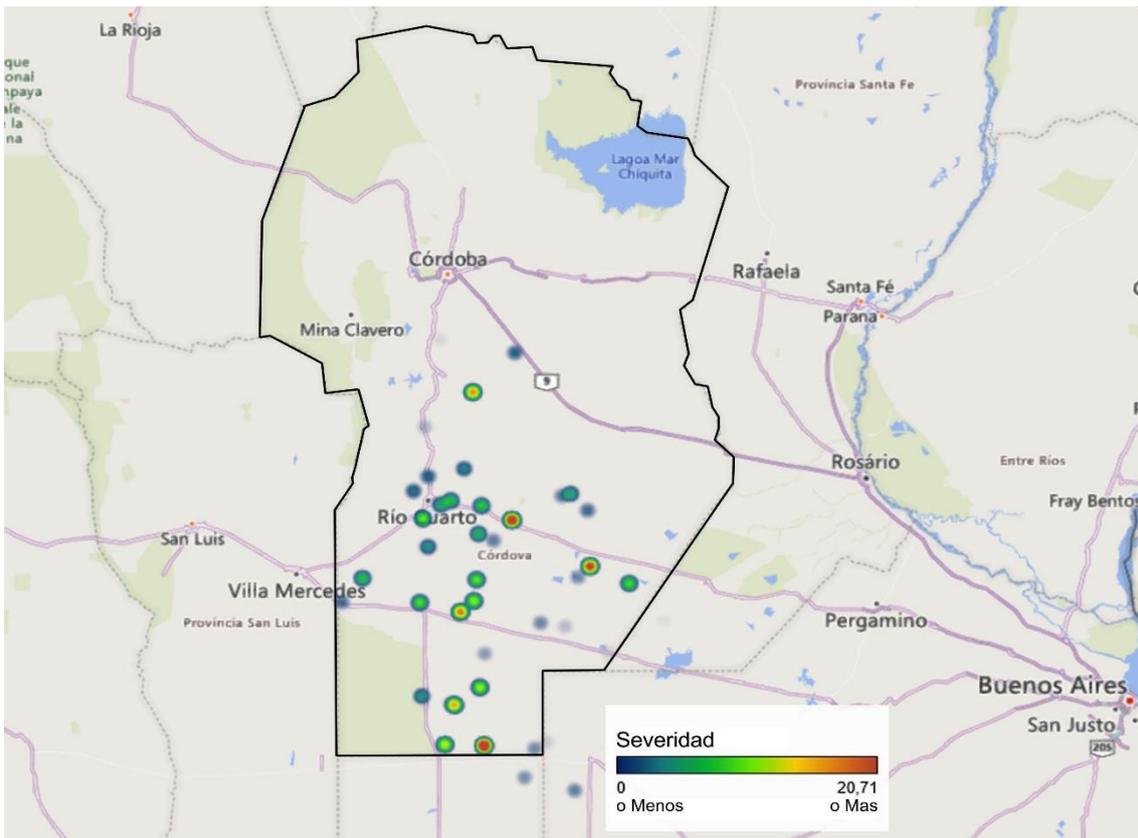


Figura 6 Localización de lotes muestreados e índice de severidad de la enfermedad.

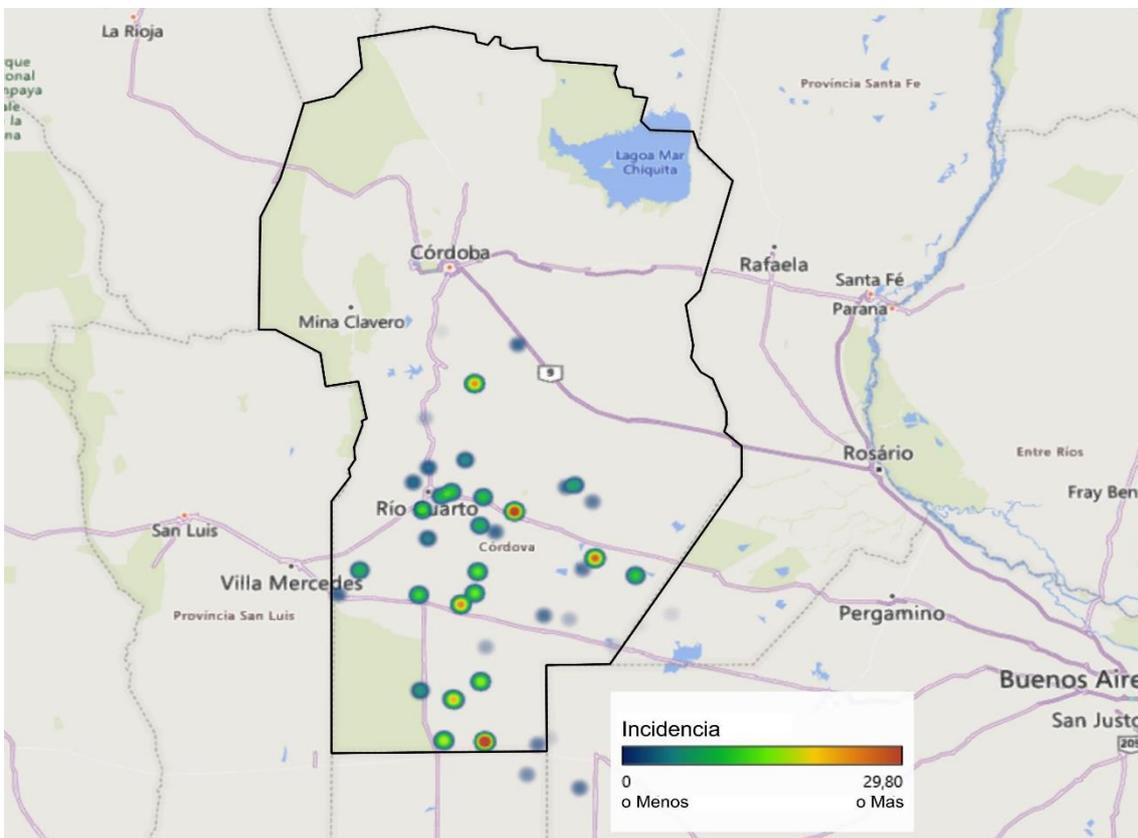


Figura 7 Localización de lotes muestreados e incidencia de la enfermedad.

## CONSIDERACIONES FINALES

Es necesario continuar con el monitoreo de la cantidad de inóculo en suelo y su relación con la incidencia y severidad de la enfermedad, ampliando el número de áreas muestreadas y realizando nuevos muestreos en aquellas áreas donde la cuantificación ya se realizó, con el objetivo de conocer el incremento de la cantidad de inóculo en el tiempo. Contar con la técnica de qPCR que es rápida, sensible y eficiente, es un punto de partida para una cuantificación más ajustada de la cantidad de inóculo, conocer el grado de infestación de los suelos y el grado de avance de la enfermedad con la finalidad de establecer estrategias de manejo que permitan mitigar el impacto del carbón de maní.

**Fotos:** Marcelo Toledo, Rocío Alcalá, Nelson Bernardi Lima, Cinthia Conforto.

**Financiamiento:** Proyecto Local 328, Proyecto disciplinario I081 (INTA) y Fundación Maní Argentino.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bernardi Lima, N., Paredes, J., Monguillot, J., Asinari, F., Rago, A., Conforto, C. 2021. Avances en la cuantificación de inóculo de *Thecaphora frezii* en muestras de suelo. 5° Congreso Argentino de Fitopatología. 59° Reunión de la División Caribe de la APS / Asociación Argentina de Fitopatólogos; American Phytopathological Society – Caribbean Division.

Cazón, LI, Conforto, C, Fernández, F. D., Paredes, J. A., Rago, A. M., 2016. Molecular detection of *Thecaphora frezii* in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seeds. Journal of Plant Pathology, 98(2), 327-330.

Marinelli, A., G.J. March y A. Rago. 1995. El carbón del maní *Thecaphora frezii*, sobre *Arachis hypogaea* L. Resúmenes VII Congreso de Micología y XVII Jornadas Argentinas de Micología. Rosario Santa Fe. p. 134.

Marinelli, A., G.J. March y C. Oddino. 2008. Aspectos biológicos y epidemiológicos del carbón del maní (*Arachis hypogaea* L.) causado por *Thecaphora frezii* Carranza & Lindquist. AGRISCIENTIA, Vol XXV (1): 1-5.

Fernandez, E. M. Y Giayetto, O. El cultivo de maní en Córdoba. 2017. pp 280.

Monguillot J.H., Paredes, J.A., Asinari, F., Perez I.A., Rago, A.M. 2021. Distribución espacial del carbón del maní en condiciones de baja, media y alta incidencia de la enfermedad. 5° Congreso Argentino de Fitopatología. 59° Reunión de la División Caribe de la APS / Asociación Argentina de Fitopatólogos; American Phytopathological Society – Caribbean Division.

Oddino, C., Marinelli, A., March, G., García, J., Tarditi, L., D'Eramo, L. Y., Ferrari, S. 2010. Relación entre el potencial inóculo de *Thecaphora frezii*, la intensidad de carbón del maní y el rendimiento del cultivo. XXV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina.

Paredes, J.A, Cazón, L.I., Osella, A., Peralta, V., Alcalde, M., Kearney, M., Zuza, M.S., Rago, A.M., Oddino, C. 2016. Relevamiento regional del carbon del mani y estimaciones de pérdidas producidas por la enfermedad. XXXI Jornada Nacional de Maní" en General Cabrera, Córdoba, Argentina.

Paredes, J.A., Cazón, L.I., Bima, M., Kearney, M.I., Alcalde, M., Nicolino, J.M., Rago, A.M. 2017. Protocolo de toma de muestras y evaluación para un correcto relevamiento del carbón del Maní. XXXII Jornada Nacional de Maní" en General Cabrera, Córdoba, Argentina.

Paredes, J. A., Asinari, F., Monguillot, J. H., Edwards Molina, J. P., Oddino, C., Rago, A. M. 2019. Incidencia del carbón del maní en función del inóculo de *Thecaphora frezii* en el suelo. XXXIV Jornada Nacional del Maní, General Cabrera, Córdoba, Argentina.

Rago AM, Cazón LI, Paredes JA, Molina, J. P. E., Conforto, E. C., Bisonard, E. M., Oddino, C., 2017. Peanut smut: from an emerging disease to an actual threat to Argentine peanut production. *Plant Disease*, 101(3), 400-408.

## RESUMEN

Durante la campaña 2020/21 con el objetivo de cuantificar la cantidad de inóculo de *Thecaphora frezii* y la intensidad de la enfermedad se realizaron muestreos de suelo y plantas en lotes de las provincias de Córdoba, Santa Fe, La Pampa y Buenos Aires. Los valores de inóculo determinados mediante la técnica de qPCR y la cámara de Neubauer variaron entre 0 y 2319 teliosporas/g de suelo, y los valores de incidencia variaron entre 0 y 39,57 mientras que los de severidad entre 0 y 29,76. Frente a estos resultados es importante ampliar la cantidad de áreas muestreadas para determinar el grado de avance de la enfermedad.

