

# DETECCIÓN DE ESPORAS DE *Thecaphora frezii* EN SEMILLAS DE MANÍ ASINTOMÁTICAS

Marraro Acuña, F.  
EEA INTA Manfredi  
fmarraro@manfredi.inta.gov.ar

## Introducción

El carbón del maní, una de las enfermedades que afectan al cultivo, ha adquirido una mayor importancia en los últimos años, pasando de ser un problema focalizado en ciertos lotes a convertirse en una preocupación de toda el área manisera núcleo de la provincia de Córdoba. El agente causal es el hongo *Thecaphora frezii* que sobrevive como esporas en el suelo. Estas esporas pueden ser transportadas por el viento y la maquinaria agrícola y también se ha demostrado su transmisión mediante las semillas contaminadas que producen su dispersión sobre lotes aún no infectados.

En la bibliografía existen numerosos trabajos que resaltan la importancia de la sanidad de las semillas para lograr un buen desarrollo del cultivo. Una semilla contaminada puede llevar un nuevo patógeno a zonas de cultivo donde antes no se registraba su presencia. Si se conoce cuál es la carga fúngica de la semilla, es posible tomar las medidas adecuadas para evitar la transmisión de la enfermedad y así evitar pérdidas durante el cultivo.

La técnica basada en la observación bajo el microscopio de una solución proveniente del lavado superficial de las semillas es conocida internacionalmente como "washing test". Esta técnica es recomendada cuando las esporas del hongo están presentes en la superficie de la semilla, como es el caso de caries y carbones. Esta técnica se aplica con fines cuarentenarios en Europa para el carbón del trigo. El test consiste en agitar las semillas en agua con el agregado de un agente removedor y luego observar esta suspensión bajo un microscopio óptico. El presente trabajo se planteó como objetivo adaptar esta técnica para la detección y cuantificación de esporas de *Thecaphora frezii* en semillas de maní asintomáticas.

## Materiales y métodos

Tomando como punto de partida la bibliografía existente, la técnica de "washing test" fue ajustada para poder cuantificar la carga de esporas de *Thecaphora frezii* presentes en semillas de maní. Se trabajó con un único lote de semillas dividido en dos muestras de trabajo: una fue contaminada con una determinada cantidad de esporas de carbón, mientras que la otra se empleó como control sin esporas.

Procedimiento (ver Fig. 1):

1. De cada submuestra (de 1kg) se tomaron cuatro submuestras de 50 semillas cada una.
2. Se transfirieron las 50 semillas a un Erlenmeyer, se agregaron 50 ml de agua destilada y dos gotas de Tween 20.
3. Se agitó la muestra durante un minuto.
4. Se filtró y conservó la solución de lavado.
5. Se transfirieron 20 ml de solución a un tubo de centrifuga (se prepararon dos tubos por submuestra).
6. Se centrifugó a 3000 rpm durante 15 minutos.
7. Se descartó el sobrenadante y se resuspendió el precipitado en 0,5 ml de agua.
8. Se observó en una cámara de Neubauer bajo el microscopio.
9. Se llevó a cabo una cuantificación:
  - Se contó en el interior de la cámara el total de esporas de *T. frezii*.
  - Se refirió la información a 50 semillas.

## Resultados y discusión

El procedimiento se realizó con distintas muestras de maní con tegumento, solo a una de las muestras se la contaminó con esporas de *T. frezii*. Las muestras se analizaron de acuerdo al protocolo de trabajo especificado. Tras haber analizado siete veces cada una de las muestras, se obtuvieron los mismos resultados en cada oportunidad. En la muestra contaminada los resultados se ubicaron en un rango de entre  $1,75 \times 10^6$  y  $1,1 \times 10^6$  esporas por cada 50 semillas, mientras que en la muestra control no se detectaron esporas de *T. frezii*. Estos resultados demuestran que el protocolo descrito tiene cierto grado de consistencia y repetibilidad. Estas características, junto a la particularidad de ser una técnica simple y rápida, hacen que esta sea una metodología adecuada para la detección de esporas de *T. frezii* en semillas de maní.

Es importante tener en cuenta que esta técnica está basada en la bibliografía internacional: el manual de procedimientos cuarentenarios de la EPPO en Europa describe procedimientos similares para evaluar los cargamentos de granos de trigo que ingresan al viejo continente. La importancia de la implementación de esta técnica radica en el hecho de que puede emplearse como medida de control de las semillas a utilizar.

Asimismo, si se analizan granos con tegumento, la técnica puede aplicarse en el control de los granos de maní que se comercializan.

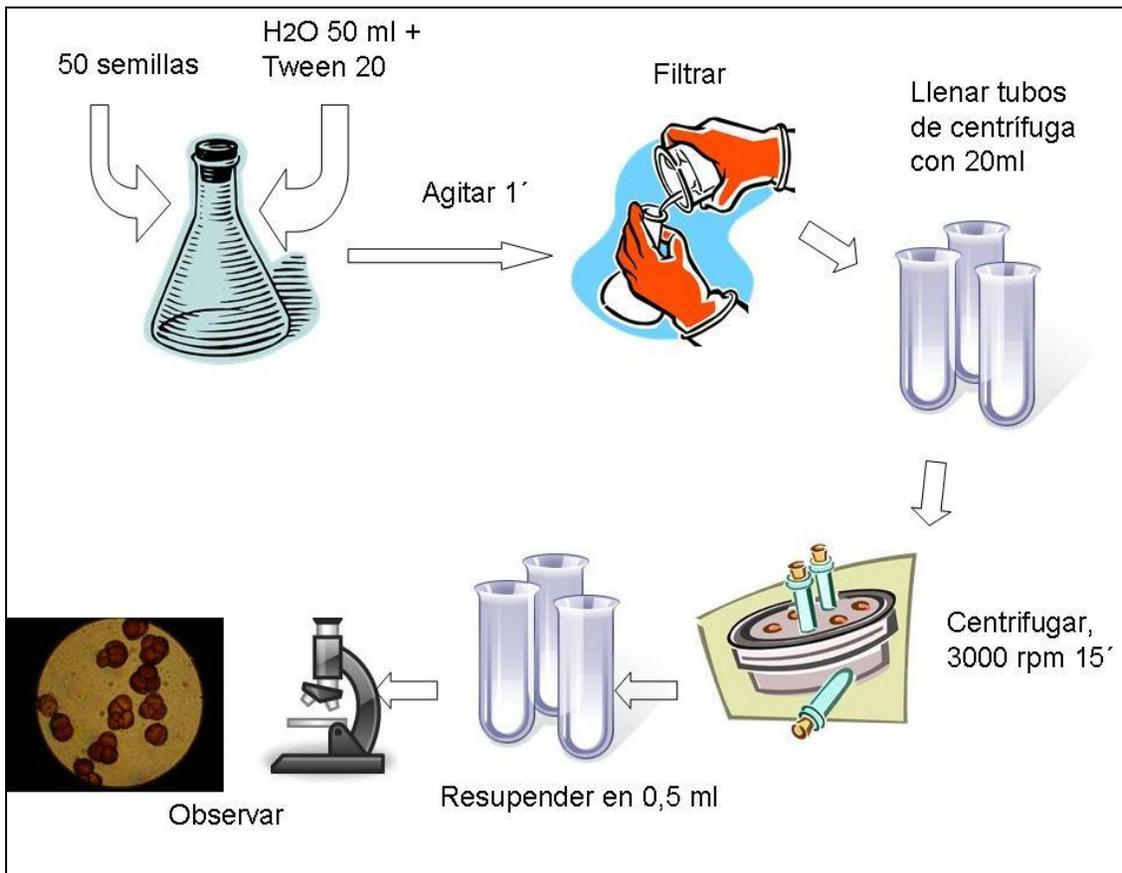


Fig. 1: Esquema del procedimiento.

**Agradecimientos:** A la Fundación Maní Argentino por la provisión de las muestras. A Ana Rodríguez y Julio Nieva.