

Aspectos biológicos y epidemiológicos del carbón del maní (*Arachis hypogaea* L.) causado por *Thecaphora frezii* Carranza & Lindquist

Marinelli, A.; G.J. March y C. Oddino

RESUMEN

El carbón fue detectado por primera vez en maní cultivado en la campaña 1994/95, y desde entonces se ha observado en lotes aislados y con baja incidencia. Considerando la importancia de este cultivo para Córdoba, y que el 80% de la producción es destinada a exportación, se estudiaron aspectos biológicos y epidemiológicos de la enfermedad. Para determinar sitios y forma de infección (postulados de Koch) se realizaron inoculaciones a flores y suelo y se sembraron semillas parcialmente afectadas y contaminadas externamente. Para cuantificar la enfermedad se monitorearon lotes (prevalencia e incidencia) en siete campañas agrícolas, y se desarrolló una metodología para detectar el patógeno en muestras de suelo. Se concluye que *Thecaphora frezii* es el causal del carbón de frutos de maní cultivado y que la infección es localizada en el ginóforo cuando penetra al suelo. Los únicos órganos colonizados son los frutos y las semillas, que pueden transformarse en una masa carbonosa. La dispersión ocurre a través de semilla enferma o contaminada externamente. El patógeno sobrevive en el suelo y es posible detectarlo mediante muestreos y observación al microscopio de las teliosporas. La prevalencia osciló entre 9-24% de lotes monitoreados, y la incidencia entre 0,13 y 2,7%; se detectó un lote con incidencia 6,4%.

Palabras clave: *Arachis hypogaea*, carbón del maní, *Thecaphora frezii*, epidemiología

Marinelli, A.; G. J. March and C. Oddino, 2008. Biological and epidemiological aspects of peanut smut (*Arachis hypogaea* L.) caused by *Thecaphora frezii* Carranza & Lindquist. *Agriscientia* XXV (1): 1-5

SUMMARY

Smut was first detected in peanut plants cultivated during the agricultural cycle 1994/95, and since then it has been observed only in some commercial peanut fields, with low incidence. Due to the importance of peanut crop for Córdoba

(Argentina), and to the fact that 80% of the production is assigned to exportation, biological and epidemiological aspects of the disease were studied. Flower and soil inoculations were made under controlled conditions in order to accomplish Koch's postulates, and to detect the sites and forms of infection by the fungus. Partially infected seeds as well as externally contaminated seeds were employed. To detect and quantify the disease through prevalence and incidence, field monitoring was carried out over seven crop years, and a methodology that allowed pathogen detection from soil samples was performed. The conclusion arrived at is that *Thecaphora frezii* is the causal agent of smut of cultivated peanut, and that the infection is localized, occurring in the peg when it penetrates the soil. The only colonised organs are the fruits and the seeds which can be transformed into carbonose mass. The dispersion of the fungus would be through infected or externally contaminated seeds. The pathogen survives in the soil and its detection is possible by taking soil samples and by observing the teliospores under a microscope. Prevalence oscillated between 9 and 24% of the monitored fields, while incidence varied between 0.13% and 2.7%; only one field with 6.4% was detected.

Key words: *Arachis hypogaea*, peanut smut, *Thecaphora frezii*, epidemiology.

A. Marinelli. Fitopatología, Fac. de Agronomía y Veterinaria – Universidad Nacional de Río Cuarto. (FAV-UNRC) Ruta 36 Km 601, 5800 Río Cuarto. G.J. March. Instituto de Fitopatología y Fisiología Vegetal-INTA (IFFIVE-INTA), Cno 60 cuadras Km 5,5 - X5020ICA Córdoba. C. Oddino. Terapéutica Vegetal, FAV-UNRC. Correspondencia a A. Marinelli: amarinelli@ayv.unrc.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La Argentina es uno de los principales productores exportadores de maní (*Arachis hypogaea* L.) en el mundo, y el 98% del área sembrada corresponde a la provincia de Córdoba (Busso *et al.*, 2004).

En la campaña agrícola 1994/95 se detectaron por primera vez en la Argentina frutos de maní de los cultivares Colorado Irrradiado INTA y Florunner afectados por carbón, el que fue identificado como *Thecaphora frezii* (Marinelli *et al.*, 1995). Este patógeno había sido citado hacía más de tres décadas por Carranza y Lindquist (1962) solamente sobre maní silvestre (*Arachis* sp.) procedente de Brasil, aunque dichos autores no lograron reproducir la enfermedad.

Los frutos de maní afectados por carbón procedían de Pampayasta, Villa Ascasubi y Ticino, que corresponden a la región centro-norte del área mani-

sera de Córdoba. Las vainas o cajas presentaban malformaciones debido a hipertrofia de los tejidos, y las semillas estaban parcial o totalmente transformadas en una masa carbonosa castaño-oscuro, que corresponden a los soros del carbón, como lo señalan Zambettakis & Joly (1975). Desde entonces se continuó detectando la presencia de esta enfermedad, siempre en lotes aislados y con muy baja intensidad (Marinelli y March, 2005).

Debido a la importancia de este cultivo para la provincia de Córdoba, y a que 80% de la producción tiene como destino la exportación, se plantearon como objetivos de este trabajo verificar a través de los postulados de Koch que *Thecaphora frezii* es el agente causal del carbón del maní cultivado, determinar el sitio y forma de infección, cuantificar su prevalencia e incidencia en el área manisera y desarrollar una metodología de detección del inóculo en suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Postulados de Koch

Para reproducir la enfermedad dando cumplimiento a los postulados de Koch, desde frutos carbonosos se recolectaron teliosporas a fin de ser utilizadas como inóculo en las pruebas de patogénesis. Las inoculaciones se realizaron en condiciones controladas de invernáculo considerando diferentes posibles formas (local y sistémica) y sitios de infección según los tratamientos que se detallan a continuación.

Tratamientos primer año

1.- Inoculación en floración.

Se sembraron tres semillas de maní cv. Florunner por maceta, en 50 macetas de 40 cm de diámetro conteniendo tierra esterilizada. A la emergencia se efectuó el raleo dejando una sola planta por maceta, para favorecer la formación de frutos.

En el estadio R2 (Boote, 1982) las flores se pulverizaron con una suspensión de esporas en agua estéril, colocando una lámina plástica sobre el suelo a fin de evitar su contaminación por las teliosporas.

2.- Siembra de semilla parcialmente afectada.

Semillas del cv. Florunner que estaban parcialmente afectadas con carbón, con hipertrofia en una región y teliosporas cubiertas por el tegumento, se sembraron en 50 macetas con tierra esterilizada.

3.- Semilla sana contaminada externamente.

Se sembraron tres semillas sanas del cv. Florunner contaminadas externamente con teliosporas, en 50 macetas con tierra esterilizada.

Las semillas se contaminaron externamente colocándolas en una bolsa de polietileno junto con las teliosporas obtenidas de semillas carbonosas, sacudiendo durante alrededor de 3 minutos para favorecer la contaminación.

4.- Inoculación al suelo.

En 50 macetas que contenían tierra esterilizada, se sembraron tres semillas sanas del cv. Florunner y a emergencia se raleó dejando una sola planta por maceta, para favorecer el desarrollo de frutos. Luego se incorporaron en los primeros centímetros del suelo teliosporas obtenidas de granos carbonosos.

A madurez de cosecha R8 (Boote, 1982) se extrajeron cuidadosamente las plantas de todos los tratamientos, dejando la tierra en cada maceta, y en laboratorio se observaron los frutos y las semillas; se registraron los afectados por carbón y se expresaron los valores como porcentaje de Incidencia de

carbón en frutos y semillas

Tratamientos segundo año

1.- Se sembraron las semillas obtenidas del tratamiento 1 del año anterior, en 50 macetas con tierra esterilizada, dos semillas por maceta.

2, 3 y 4.- Estos tratamientos consistieron en sembrar tres semillas sanas del cv. Florunner en cada una de las macetas que contenían la tierra utilizadas en los respectivos tratamientos del primer año.

5.- En este tratamiento se sembró semilla sana en las macetas que contenían la tierra del tratamiento 1 del primer año.

A madurez de cosecha (R8) (Boote, 1982) se extrajeron cuidadosamente las plantas y en laboratorio se observaron los frutos y las semillas; se registraron los afectados por carbón y se expresaron los valores como porcentaje de Incidencia de carbón en frutos y semillas.

Prevalencia e incidencia

Con el objetivo de estimar la prevalencia (% de lotes con presencia de carbón), desde la campaña 1995/96 se registró la presencia de la enfermedad a partir de monitoreos realizados en diferentes años. Los monitoreos se efectuaron por observación directa de los frutos de cinco plantas obtenidas en cada una de 20 estaciones de muestreo, ubicadas regularmente cada 20 surcos en una diagonal del lote.

Por su parte, la incidencia (% de frutos y semillas enfermas) se evaluó en cinco lotes en que se registró la presencia de la enfermedad en los monitoreos de prevalencia.

Detección de inóculo

Con el objetivo de desarrollar una técnica que permitiera detectar rápidamente en el suelo la presencia de las teliosporas *T. frezii*, se efectuaron muestreos de suelo en tres lotes ubicados en la zona rural de Gral. Cabrera (Pcia. de Córdoba) en los que se había detectado la presencia de la enfermedad en campañas anteriores, y en dos lotes sin ésta.

El muestreo de suelo en cada uno de los lotes consistió en la obtención de 10 muestras sobre una de las diagonales del lote, con una distancia de 30 m entre sitios de muestreo. Cada muestra de suelo, de aproximadamente 500 cm³, se conformó con 10 submuestras de 50 cm³ obtenidas en un círculo de un metro de diámetro aproximadamente. Cada submuestra fue obtenida con una palita de 5 cm de ancho por 5 cm de profundidad y 2 cm de espesor.

En laboratorio cada muestra de suelo fue desgranada y tamizada para separar los restos vegetales. A continuación se extrajeron de cada muestra 50 g de suelo que se suspendieron en 100 cc de agua estéril; se agitó durante 3 minutos en agitador, y luego de un reposo de 30 segundos se realizaron tres extracciones con micropipeta desde la zona media de la suspensión correspondiente a cada muestra. Se colocaron tres gotas en un portaobjeto para la observación de teliosporas al microscopio óptico (objetivo 4X y ocular 10X).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Postulados de Koch

En la Tabla 1 constan los resultados obtenidos para cada tratamiento de inoculación en los dos años del estudio. Según se observa en dicha tabla, solamente se logró reproducir la enfermedad cuando los frutos se desarrollaron en suelo con teliosporas de carbón. En el primer año esto ocurrió cuando se incorporaron teliosporas en los primeros centímetros de suelo; en el segundo año ocurrió en las macetas cuyo suelo tenía las teliosporas que habían quedado en él como consecuencia de su inoculación, o de su introducción al suelo a través de semilla afectada por carbón (síntoma visible, es decir semilla enferma con soro carbonoso), o de semilla sana contaminada externamente en el primer año. Por el contrario, no se lograron infecciones cuando se inocularon flores, ni las semillas obtenidas de estas flores reprodujeron la enfermedad.

Por otra parte, Astiz Gassó y Marinelli (2003) comprobaron *in vitro* que la germinación de teliosporas es favorecida notablemente por extractos obtenidos de diferentes partes de la planta de maní, preferentemente de frutos. Es factible entonces que al introducirse el ginóforo (vulgarmente conocido como clavo) al suelo, libere compuestos a la solución del suelo que estimulan la germinación de teliosporas, y de esta forma la infección al ginóforo.

De estos resultados surge claramente que las infecciones por las teliosporas de *T. frezii* son locales y al fruto. Luego de la infección la colonización avanza produciendo hipertrofia en los tejidos del fruto (vainas) y a una o a las dos semillas.

Al comienzo el soro en la semilla está cubierto por una membrana tenue y blanquecina que luego se rompe y deja la masa de teliosporas libres.

Lindquist y Carranza (1962) no lograron reproducir la enfermedad en maní cultivado, por que sólo inocularon externamente semillas con teliosporas previo a la siembra; mientras que la infección, como

quedó demostrado en este trabajo, es local y se produce cuando el ginóforo o clavo se introduce en el suelo resultando entonces el fruto carbonoso.

Prevalencia e incidencia

En la Tabla 2 se presentan los valores de prevalencia del carbón en función de los lotes monitoreados en diferentes años.

La incidencia en estos lotes (% de vainas afectadas) osciló entre 0,13 y 2,7%, con la excepción de un lote ubicado en la zona rural de Gral. Cabrera en que la incidencia fue de 6,42%.

Considerando que es a través de semilla carbonosa o contaminada externamente que *T. frezii* puede ser introducida a un nuevo lote, y que han transcurrido más de 10 años desde que fuera determinada su presencia en la Argentina en maní cultivado, estos resultados indican que su dispersión ha sido muy baja. Esto marca una diferencia con otros patógenos que también son dispersados por la

Tabla 1. Incidencia del carbón *Thecaphora frezii* en frutos y semilla de maní según diferentes técnicas de inoculación. Postulados de Koch.

Año	Tratamientos	Frutos			Semillas		
		Sanos	Enfermos	%	Sanas	Enfermas	%
		Nº	Nº	%	Nº	Nº	%
1	1	313	0	0,0	528	0	0,0
	2	280	0	0,0	452	0	0,0
	3	427	0	0,0	653	0	0,0
	4	386	14	3,5	589	17	2,8
2	1	373	0	0,0	662	0	0,0
	2	380	11	2,8	608	12	1,9
	3	350	12	3,3	543	18	3,2
	4	320	26	7,5	512	31	5,7
	5	415	0	0,0	622	0	0,0

Tabla 2. Prevalencia del carbón del maní *Thecaphora frezii* en lotes comerciales en diferentes años.

Año	Nº de lotes monitoreados	Nº de lotes con carbón	Prevalencia *
1997	30	3	10
1999	55	5	9
2000	50	6	12
2002	40	4	10
2005	35	4	11
2006	93	14	15
2007	30	8	24

*Prevalencia: porcentaje de lotes en que se detectó la enfermedad.

semilla de maní, como ocurrió con la podredumbre parda de la raíz del maní causada por *Fusarium solani* (Marinelli, 2000; March *et al.*, 2005; Zuza *et al.*, 2005).

Las semillas carbonosas son fáciles de detectar, por lo que su eliminación en el proceso de selección de semilla sería sencilla, no así la detección de semilla contaminada externamente, para las que se debería efectuar un análisis especial y deberían evaluarse posibles fungicidas curasemillas para el control de las teliosporas.

Detección de inóculo

En 30% de las muestras de suelo en los lotes 1 y 2 y en 60% en el lote 3 de los tres lotes en que se había determinado la presencia de la enfermedad, se detectaron las teliosporas del patógeno. Por el contrario, no se detectó la presencia de *T. frezii* en los dos lotes en que no se había registrado la enfermedad. La detección del potencial inóculo de hongos del suelo previo a la siembra de maní, ha sido también desarrollado en Argentina para *Sclerotium rolfsii* y *F. solani* (March *et al.*, 1996; Oddino *et al.*, 2005). Estas técnicas permiten realizar evaluaciones de riesgo biológico sobre el potencial inóculo por hongos patógenos del suelo a nivel regional y predial previo a la siembra, y con ello contar con una importante herramienta para la toma de decisiones de siembra del cultivo y el diseño de estrategias de manejo (Oddino *et al.*, 2005).

CONCLUSIONES

Thecaphora frezii es el agente causal del carbón de los frutos de maní cultivado.

La infección es localizada en el ginóforo o clavo cuando penetra en el suelo; la colonización también es localizada y produce hipertrofia de los tejidos del fruto, el que se presenta malformado y afectando a una o las dos semillas que son carbonosas. La dispersión a nuevos campos, ocurre a través de semilla enferma (con soro carbonoso) o contaminada externamente con teliosporas.

Es posible detectar a través de una metodología simple la presencia de teliosporas de *T. frezii* en el suelo.

AGRADECIMIENTOS

A la Secretaría de Ciencia y Técnica (UNRC) y al INTA, que a través de subsidios a proyectos en sanidad del maní han permitido la realización de

estudios para este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Astiz Gassó, M. y A. Marinelli, 2003. Cultivo in Vitro de *Thecaphora frezii* (Ustilaginales) Carbón del maní (*Arachis hypogaea* L.). Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica 38:256.
- Boote, K. J., 1982. Growth status of peanut (*Arachis hypogaea* L.). Peanut Sci. 9: 35-39.
- Busso, G., M. Civitaresi, A. Geymonat y R. Roig, 2004. Situación socioeconómica de la producción del maní y derivados en la región centro-sur de Córdoba. Imprenta Universidad Nacional de Río Cuarto. 163 pp.
- Carranza, J. M. y J.C. Lindquist, 1962. *Thecaphora frezii* n sp., parásita de *Arachis* sp. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica X (1):11-17.
- March G. J., A. Rago, A. Marinelli y J. Giuggia, 1996. Densidad de inóculo e incidencia del marchitamiento por *Sclerotium rolfsii* Sacc. en maní (*Arachis hypogaea* L.). Pag. 42, en: Resúmenes. 11ª Jornada Nacional del Maní. Gral. Cabrera, Córdoba, Argentina
- March, G. J., A. Marinelli, C. Oddino y M. Kearney, 2005. Evaluación regional de enfermedades causadas por hongos del suelo en maní. En: Resúmenes XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Carlos Paz, Córdoba, Argentina. p 367
- Marinelli, A., 2000. Biología y epidemiología del tizón del maní causado por *Sclerotinia minor* y *S. sclerotiorum*. Tesis Doctorado, Universidad Nacional de Río Cuarto.
- Marinelli, A. D. y G.J. March, 2005. El carbón del maní. En: Enfermedades del maní en la Argentina (G.J. March y A.D. Marinelli, eds.) Biglia Impresores. pp 88-89
- 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.
- Oddino, C., M. Zuza, G. March y A. Marinelli, 2005. Relación entre la incidencia de la podredumbre parda de la raíz del maní y la densidad de inóculo de *Fusarium solani*, Resúmenes XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología, Carlos Paz, Córdoba, Argentina. p. 372.
- Zambettakis Ch. et P. Joly, 1975. Application de traitements numériques a la systématique des ustilaginales III Le Genre *Thecaphora*. Bull. Soc.Myc. Fr. 91-1 : 71—88.
- Zuza, M., C. Oddino, A. Marinelli y G. J. March, 2005. La semilla de maní como fuente de inóculo primario de la podredumbre parda de la raíz y el tizón del maní. Resúmenes XX Jornada Nacional del Maní. Gral. Cabrera. pp. 43-44.