

AVANCES EN LA DETECCIÓN DE THECAPHORA FREZII EN MUESTRAS DE SUELO

Conforto, C.^{1,2}, Dumon, A.D.³, Bernardi Lima, N.^{2,3}, Paredes, J.A.¹, Monguillot, J.H.¹, Serri, D.L.¹, Vargas Gil, S.^{1,2,3} y Rago, A.M.^{4,5}
1. IPAVE, CIAP, INTA; 2. UFYMA; 3. CONICET; 4. CIAP, INTA; 5. Facultad de Agronomía y Veterinaria, UNRC.

Introducción

El carbón del maní, cuyo agente causal es *Thecaphora frezii*, desde su primer reporte hasta la actualidad, se ha convertido en una enfermedad epidémica en los campos de maní de la provincia de Córdoba. Esta es una enfermedad monocíclica, por lo que su intensidad depende directamente de la cantidad de inóculo inicial en el suelo. La relación entre la densidad de inóculo presente en el suelo al momento de la siembra con la intensidad de la enfermedad y las pérdidas que causa, resulta un aspecto de gran relevancia para evaluar y desarrollar estrategias de manejo. En la actualidad los métodos utilizados para cuantificación de teliosporas son basados en la observación directa por microscopía óptica, lo cual implica excesivo tiempo de ejecución e imprecisión en los resultados. Por este motivo resulta imprescindible explorar nuevas metodologías tendientes a eficientizar el proceso de cuantificación de inóculo en el suelo. El objetivo de este trabajo fue ajustar la extracción y detección de teliosporas de *T. frezii*, mediante la técnica reacción en cadena de la polimerasa (PCR), a partir de muestras de suelo provenientes del área productora núcleo

Materiales y Métodos

En la campaña 2017/2018 se realizó un muestreo obteniendo muestras compuestas de suelo, correspondientes a la zona manisera núcleo, las cuales fueron tamizadas y conservadas a -20 °C para su posterior procesamiento. A partir de 0.5 gramos de suelo de 4 muestras se realizó la extracción de DNA utilizando un kit (Macherey-Nagel), siguiendo las especificaciones del proveedor con el objetivo de obtener DNA de calidad, libre de inhibidores que pueden estar presentes en el suelo. Los primers específicos utilizados en la reacción de PCR fueron: TF-2F (5'ATGTCAAAGAGTGCGAAGAC3') y TF-2R (5'TATCTTGCTGGTAGGCTGTT3'), diseñados a partir de la región ITS del ADN ribosomal. Las condiciones de ciclado para PCR fueron 35 ciclos de 95 °C por 1 minuto, 55 °C por 1 minuto y 72 °C por 1 minuto. Los productos de DNA y PCR fueron evaluados en cuanto a su cantidad y calidad mediante espectrofotómetro de micro-volumen nanodrop y gel de agarosa al 1%. Se utilizó como control negativo una muestra de suelo libre de teliosporas de *T. frezii*.

Resultados

De todas las muestras de suelo fue posible extraer DNA en cantidad y calidad. Todas las reacciones provenientes de suelos del área manisera fueron positivas para la reacción de PCR utilizando primers específicos (Fig. 1), obteniendo tamaños de banda de 190 pb.

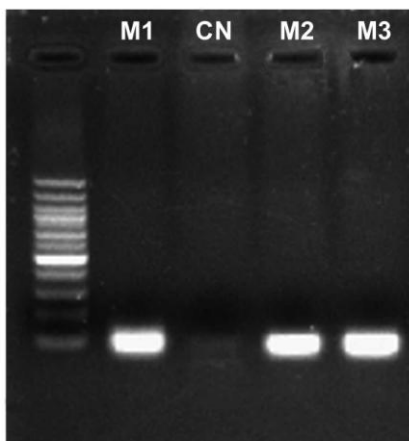


Figura 1. Producto de amplificación de PCR. M1, M2, M3: muestras de suelo positivas para *T. frezii*. CN: control negativo.

Conclusión

El método de extracción de DNA y la reacción de PCR muestran resultados promisorios e implican un punto de partida para la cuantificación de inóculo en forma precisa y específica, a partir de muestras de suelo que contengan teliosporas de *T. frezii*.

Financiamiento

Proyecto Especial de Innovación Científica Tecnológica integrados en redes o grupos de I+D+I. Ministerio de Ciencia y Tecnología de Córdoba.

MINCYT-PIODO 2018. Proyecto de investigación orientado a la oferta y a la demanda "Uso de bio-carbón en la estimulación de la microbiota del suelo y el manejo del carbón del maní (*Thecaphora frezii*)".