



*Universidad Nacional de Córdoba*  
*Facultad de Ciencias Agropecuarias*  
*Escuela para Graduados*



---

**COMPONENTES DEL CICLO DE PATOGÉNESIS EN  
LA INTERACCIÓN DEL HONGO *Thecaphora frezii*  
EN EL CULTIVO DE MANÍ**

**Ing. Agr. (MSc.) Juan Andrés Paredes**

Tesis

para optar al Grado Académico de

Doctor en Ciencias Agropecuarias

*Córdoba, 2022*

# COMPONENTES DEL CICLO DE PATOGÉNESIS EN LA INTERACCIÓN DEL HONGO *Thecaphora frezii* EN EL CULTIVO DE MANÍ

**Ing. Agr. (MSc.) Juan Andrés Paredes**

## **Comisión Asesora de Tesis**

**Directora:** Dra. Adriana Torres

**Codirector:** Dr. Juan Pablo Edwards Molina

**Asesora:** Dra. Marina Bressano

## **Tribunal Examinador de Tesis**

Dra. Marina Bressano .....

Dr. Juan Moral Moral .....

Dr. Roberto De Rossi .....

## **Presentación formal académica**

Octubre 2022

Facultad de Ciencias Agropecuarias  
Universidad Nacional de Córdoba



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons  
Atribución – No Comercial – Sin Obra Derivada 4.0 Internacional

## Agradecimientos

Es inevitable no mirar atrás y reconocer y apreciar a todas las personas que han compartido y me han hecho aprender y disfrutar de todo este proceso. *La gratitud es la memoria del corazón.*

Quisiera comenzar agradeciendo a mis directores de beca y doctorado, quienes depositaron la confianza en mí para lograr este desafío.

A Adriana Torres, mi directora, que me dio la libertad de hacer, siempre brindando su apoyo y seguridad en todas mis decisiones.

A Alejandro Rago, quien me dio las facilidades de emprender esta etapa, con palabras justas y confianza plena.

A Juan Pablo Edwards, codirector y gran amigo, fundamental en mi proceso de aprendizaje, que me contagia con las ganas de seguir perfeccionando y haciendo.

A Marina Bressano, guía en este camino recorrido, que con su calidez estuvo siempre dispuesta a darme su punto de vista.

A los miembros del Tribunal Evaluador de Tesis, quienes dedicaron su tiempo para revisar esta tesis, siempre con sugerencias constructivas.

Quiero agradecer especialmente a mi familia, pilares de mi vida, que siempre estuvieron a mi lado, me acompañaron y apoyaron en cada paso.

A mis compañeros de INTA, que hacen del trabajo un lugar que se disfruta, y a mi equipo de trabajo, verdaderos amigos que logran que todo sea mucho más lindo y fácil.

A quienes tuve el privilegio de conocer durante esta etapa, que me hicieron crecer personal y profesionalmente.

A todos los que me acompañaron y ayudaron en la ejecución de los experimentos. A quienes me enseñaron, me dieron su punto de vista, o me aconsejaron.

A CONICET, INTA y Fundación Maní Argentino, que a través de sus subsidios y financiamientos hicieron posible la ejecución de todos los experimentos e investigaciones.

A la Facultad de Agronomía de la UNC y su Escuela para Graduados, por permitirme realizar este doctorado.

*\*\*\* En definitiva, a todas las personas que de una u otra forma, se hicieron presentes y formaron parte en este capítulo de mi vida... \*\*\**

*A mí abuela Elena*

*A mis padres, Marcelo y Mirta*

*A mis hermanos, Natalia y Fernando*

*A mis sobrinos, Ezequiel, Lara y Lucas*

*“No era más que un zorro semejante a cien mil zorros. Pero yo le  
hice mi amigo y ahora es único en el mundo.”*

*El principito – Antoine de Saint-Exupéry*

## RESUMEN

El maní (*Arachis hypogaea* L.), es uno de los cultivos regionales característicos de la provincia de Córdoba. Durante la última década, la producción manisera ha sido seriamente comprometida debido a la enfermedad del carbón, causada por el hongo habitante de suelo *Thecaphora frezii*. Las particularidades de este patógeno convirtieron a esta enfermedad en la más importante del cultivo, donde el desconocimiento de la enfermedad a nivel local y mundial, y la incertidumbre en los procesos epidemiológicos, motivaron la realización de esta tesis. En este sentido, las etapas del ciclo de patogénesis (sobrevivencia; infección y colonización; reproducción; dispersión) fueron abordadas bajo múltiples experimentos y análisis. Se determinó que las teliosporas de *T. frezii* mantienen su capacidad de infección durante al menos seis años, información necesaria para comprender la epidemiología de los problemas sanitarios. Además, siendo los síntomas de la enfermedad variables (desde una pequeña pústula hasta la transformación completa de los granos en masas carbonosas), se logró analizar mediante modelos de regresión lineal con datos de relevamientos zonales, que las vainas con uno o dos granos carbonosos (vainas severamente afectadas o SDP) son la mejor representación del índice de severidad de la enfermedad. Sumado a eso y para caracterizar la infección, se evaluaron diferentes momentos de exposición del clavo al inóculo, donde no se registraron diferencias en la intensidad durante los primeros 15 días en el que el clavo ingresa al suelo. Además, se buscó relacionar diferentes variables ambientales sobre la enfermedad mediante análisis de correlación de Pearson. Se observó que las precipitaciones, y las temperaturas mínimas y máximas durante el período de clavado (enero a marzo) correlacionaron significativamente con la expresión del carbón. Por otra parte, debido a la gran cantidad de teliosporas que contienen las vainas carbonosas en su interior (multiplicación del patógeno) se cuantificó el incremento del inóculo en suelo posterior a una estación de cultivo, donde el número de teliosporas en el suelo se triplicó cuando la enfermedad en el lote fue mayor a 3 % de SDP. Para evaluar la dispersión de las teliosporas en el momento de la cosecha, debido al rompimiento de las vainas carbonosas, se realizaron modelos aditivos generalizados (GAM), donde se determinó que las teliosporas son vehiculizadas por el viento y que las variables de velocidad y dirección influyen en la distancia de dispersión desde el área de cosecha. Del mismo modo se analizó la dispersión de las teliosporas desde las industrias, concluyendo que éstas actúan como foco de diseminación, donde vainas carbonosas procesadas liberan teliosporas al ambiente que incrementan las teliosporas en los suelos circundantes. Los problemas sanitarios producidos por patógenos de suelo se manejan mediante el uso de diferentes enfoques integrados. Los resultados obtenidos en esta tesis contribuyen al conocimiento y a la comprensión de diferentes aspectos del carbón del maní, describiendo las etapas del ciclo de patogénesis, caracterizando aspectos de la epidemiología de la enfermedad, con el fin de lograr establecer estrategias de manejo eficientes que sean fácilmente adoptables por el sector productivo, y que aseguren beneficios económicos y sustentables.

**Palabras claves:** carbón del maní, epidemiología, sobrevivencia, infección, dispersión

## ABSTRACT

Peanut (*Arachis hypogaea* L.) is one of the main regional crops in Córdoba province. During the last decade was seriously affected by peanut smut, caused by the soil-borne pathogen *Thecaphora frezii*. Due to its characteristics became one of the most important peanut diseases, and the lack of knowledge of the disease and its epidemiology, motivated the goal of this thesis. The pathogenic cycle stages (survival; reproduction; infection and colonization; dispersal) were addressed through multiple experiments and analysis. *T. frezii* teliospores keep the infection efficiency up to six years long, this information is very useful to the comprehension of the disease epidemiology. In addition, since a large variability has been observed in smut symptoms (from a small sorus to the complete transformation of the kernel), a large-scale survey provided data for linear regression models analysis. According to the data obtained, where at least one or both kernels were transformed into a mass of spores (severely damaged pods, SDP), had the best representation of the severity disease index. For the characterization of the infection, different times of peg exposure to the inoculum were evaluated, where no differences in the disease intensity were recorded during the first 15 days when the peg get inside the soil. In addition, Pearson's correlation was performed to assess the effect of environmental factors on the disease. Precipitation, and minimum and maximum temperatures during the pegging stage (January to March), influence the expression of the smut. Due to the highest production of teliospore inside the smutted pods, were calculated the soil inoculum increase after harvest, increasing the inoculum more than three-fold when the smut recorded in the field is high (more than 3 % SDP). Smut spores are released at harvest when the smutted pods are broken. The spore spread was evaluated using generalized additive models (GAM). During harvest, the spores are carried by wind and influenced by wind-speed and wind-direction, being the spores' spread decreased over distances from the harvested area. In other study, the spore spread from the industries was analyzed, concluded that the shelling factories are a center of spread, releasing the spores when the infected pods break open in the process, increasing the soil inoculum near factories. Soil-borne pathogens are managed through different integrated strategies. The results obtained in this thesis contribute to the knowledge of peanut smut, describing the stages of the pathogenesis cycle, and characterizing the disease epidemiology to address efficient management strategies highly applicable by the growers, with economic and environmental results.

**Key words:** peanut smut, epidemiology, survival, infection, dispersal

## Tabla de contenidos

### CAPÍTULO 1

<b>INTRODUCCIÓN GENERAL.....</b>	<b>20</b>
HIPÓTESIS .....	27
OBJETIVO GENERAL .....	27
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	28
MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES .....	29
Parametrización de la enfermedad.....	29
<b>BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO .....</b>	<b>31</b>

### CAPÍTULO 2

<b>SOBREVIVENCIA DE LAS TELIOSPORAS DE <i>Thecaphora frezii</i>.....</b>	<b>35</b>
INTRODUCCIÓN.....	35
MATERIALES Y MÉTODOS.....	37
Experimento a campo en microparcels .....	37
Experimento en macetas .....	39
RESULTADOS .....	41
Ensayo a campo en microparcels .....	41
Ensayo en condiciones semicontroladas en macetas .....	45
DISCUSIÓN.....	46
CONCLUSIONES.....	49
<b>BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO .....</b>	<b>50</b>

### CAPÍTULO 3

<b>REPRODUCCIÓN DE <i>Thecaphora frezii</i> .....</b>	<b>53</b>
<b>3.1 DISTRIBUCIÓN DE LOS GRADOS DE SEVERIDAD .....</b>	<b>53</b>
INTRODUCCIÓN.....	53
MATERIALES Y MÉTODOS.....	56
Sitios de muestreo y descripción del relevamiento.....	56
Evaluación de la enfermedad y frecuencia de la clase de gravedad .....	57
Análisis de los datos .....	58
RESULTADOS .....	59
Relevamientos de carbón .....	59
Análisis de relaciones de métricas de intensidad de carbón .....	63
DISCUSIÓN.....	64
CONCLUSIONES.....	69



<b>3.2 DINÁMICA DE LA CONCENTRACIÓN DE TELIOSPORAS.</b>	<b>70</b>
INTRODUCCIÓN.....	70
MATERIALES Y MÉTODOS.....	72
Descripción y sitios del muestreo .....	72
Toma de muestras de suelo y cuantificación de inóculo.....	72
Análisis de los datos .....	73
RESULTADOS .....	74
Análisis de correlación.....	76
DISCUSIÓN.....	77
CONCLUSIONES.....	80
<b>BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO .....</b>	<b>81</b>

## CAPÍTULO 4

### **INFECCIÓN Y COLONIZACIÓN DE *Thecaphora frezii* EN *Arachis hypogaea* .....**

<b>4.1. SUSCEPTIBILIDAD .....</b>	<b>85</b>
INTRODUCCIÓN.....	85
MATERIALES Y MÉTODOS.....	88
Análisis de datos .....	90
RESULTADOS .....	91
DISCUSIÓN.....	94
CONCLUSIONES.....	98
<b>4.2 CONDICIONES PREDISPONENTES .....</b>	<b>99</b>
INTRODUCCIÓN.....	99
EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES DE HUMEDAD EN LA INFECCIÓN .....	102
MATERIALES Y MÉTODOS.....	102
Ensayo en condiciones controladas .....	102
Experiencia a campo.....	104
Análisis estadísticos.....	105
RESULTADOS .....	106
Ensayo en condiciones controladas .....	106
Ensayos a campo .....	108
EVALUACION DE LA INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES DE TEMPERATURA EN LA INFECCIÓN .....	114
MATERIALES Y MÉTODOS.....	114
Ensayo en condiciones controladas .....	114
Ensayo en condiciones de campo .....	115

Análisis estadísticos.....	115
RESULTADOS .....	116
Ensayo en condiciones controladas .....	116
Ensayos en condiciones de campo.....	118
DISCUSIÓN .....	121
CONCLUSIONES.....	125
<b>4.3 EFECTO DEL RASTROJO.....</b>	<b>126</b>
INTRODUCCIÓN.....	126
MATERIALES Y MÉTODOS.....	128
Determinación de la rotación de cultivos por teledetección .....	129
Análisis de datos .....	129
RESULTADOS .....	130
Efecto de rotaciones de cultivos .....	130
Efecto del cultivo inmediato anterior.....	133
DISCUSIÓN.....	134
CONCLUSIONES.....	138
<b>BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO .....</b>	<b>139</b>

## CAPÍTULO 5

### **DISPERSIÓN DE TELIOSPORAS DE *Thecaphora frezii* ..... 146**

#### **5.1 DISPERSIÓN DE TELIOSPORAS DE *Thecaphora frezii* EN COSECHA ..... 146**

INTRODUCCIÓN.....	146
MATERIALES Y MÉTODOS.....	149
Descripción de las áreas de estudio .....	149
Muestreo de dispersión espacial de teliosporas .....	150
Proporción del tipo y tamaño de espora.....	151
Patrones espaciales de la dispersión de teliosporas .....	152
RESULTADOS .....	154
Intensidad del carbón, datos meteorológicos y humedad del suelo.....	154
Tamaño de la espora y proporción del tipo de espora .....	157
Dispersión por viento de las teliosporas de carbón durante la cosecha .....	158
DISCUSIÓN.....	159
CONCLUSIONES.....	163

#### **5.2 DISPERSIÓN DE LAS TELIOSPORAS DE *Thecaphora frezii* EN ESCALA REGIONAL ..... 164**

INTRODUCCIÓN.....	164
MATERIALES Y MÉTODOS.....	166

Descripción de las áreas de estudio .....	166
Muestreo de dispersión espacial de teliosporas .....	166
Análisis de datos .....	167
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>169</b>
Modelado de la dispersión de las teliosporas de carbón por las industrias.....	171
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>172</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>174</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO .....</b>	<b>175</b>

## **CAPÍTULO 6**

<b>CONSIDERACIONES GENERALES.....</b>	<b>180</b>
CONCLUSIONES GENERALES .....	185
<b>BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO .....</b>	<b>186</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>187</b>

## Lista de Tablas

<b>Tabla 2.1.</b> Evaluación de carbón del maní para las parcelas inoculadas en 2016, 2017 y 2018. Medidas resúmenes de la incidencia, las vainas severamente afectadas (SDP) y el índice de severidad (DSI) del carbón del maní, y su comparación estadística según los años de duración de las teliosporas desde la inoculación. ....	42
<b>Tabla 3.1.</b> Evaluación de carbón del maní para los lotes relevados desde 2015 a 2020 en diferentes departamentos productivos de la provincia de Córdoba. Medidas resúmenes de la incidencia (%) y el índice de severidad (DSI) del carbón del maní, y sus valores mínimos y máximos, según departamento y año de relevamiento. ....	60
<b>Tabla 3.2.</b> Medidas resúmenes y comparaciones de las mediciones de inóculo en suelo inicial y final, las vainas severamente afectadas (SDP) y los incrementos de teliosporas, clasificados según el nivel de enfermedad.....	75
<b>Tabla 3.3.</b> Análisis de correlación de Pearson para inóculo inicial y final de <i>Thecaphora frezii</i> , el aumento y la proporción de incremento de teliosporas, y los parámetros de enfermedad de incidencia, vainas severamente afectadas (SDP), índice de severidad (DSI). Datos relevados de lotes comerciales entre los años 2016-17 a 2019-20.....	76
<b>Tabla 4.1.</b> Número de vainas según grado de severidad de carbón del maní en función del día que se expuso el clavo al inóculo en el experimento 1. ....	91
<b>Tabla 4.2.</b> Número de vainas según grado de severidad de carbón del maní en función del día que se expuso el clavo al inóculo en el experimento 2. ....	92
<b>Tabla 4.3.</b> Producción de vainas totales y enfermas por carbón del maní, y medidas resúmenes de la enfermedad como incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad (DSI) para los distintos tratamientos según la condición hídrica del suelo (CHS) en distintos años de experimentos en condiciones controladas. ....	106
<b>Tabla 4.4.</b> Precipitaciones (mm) mensuales y totales (diciembre a marzo), para los años de estudio en cada sitio de muestreo (General Cabrera y General Deheza).....	108
<b>Tabla 4.5.</b> Medidas resúmenes y comparaciones de las evaluaciones de la severidad del carbón del maní como incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad (DSI) del carbón del maní, para las diferentes parcelas muestreadas en el estudio (n) entre los años 2016 a 2020 (General Cabrera) y 2015 a 2019 (General Deheza).....	110
<b>Tabla 4.6.</b> Medidas resúmenes y comparaciones de las evaluaciones de la severidad del carbón del maní como porcentaje de vainas de severidad grado 3 y severidad grado 4, para las diferentes parcelas muestreadas en el estudio (n) entre los años 2016 a 2020 (General Cabrera) y 2015 a 2019 (General Deheza). ....	112
<b>Tabla 4.7.</b> Medidas resúmenes y comparaciones de las evaluaciones de la severidad del carbón del maní como incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad (DSI) del carbón del maní, según diferentes temperaturas medias en ensayos en condiciones controladas. ....	116
<b>Tabla 4.8.</b> Medidas resúmenes de las evaluaciones de carbón del maní como incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad (DSI), para las diferentes rotaciones de cultivos de los lotes evaluados en la campaña 2019-20. ....	130

<b>Tabla 4.9.</b> Medidas resúmenes y comparaciones de las evaluaciones del carbón del maní como incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad (DSI), para los lotes clasificados según los años desde la última siembra de maní en cada lote.....	131
<b>Tabla 4.10.</b> Medidas resúmenes y comparaciones de las evaluaciones del carbón del maní como incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad (DSI), para las rotaciones de cultivo Maíz-Soja-Maíz o Soja-Maíz-Soja, particionado según los años desde la última siembra de maní en cada lote.....	132
<b>Tabla 5.1.</b> Estadísticas descriptivas para los parámetros del carbón de maní: incidencia de la enfermedad, índice de severidad de la enfermedad (DSI) y vainas severamente afectadas (SDP) para los seis sitios observacionales (lotes 1 a 6).....	154
<b>Tabla 5.2.</b> Datos meteorológicos resumidos durante el momento de cosecha y toma de muestras, la humedad del suelo y las vainas severamente afectadas (SDP) para cada sitio observacional. ....	155
<b>Tabla 5.3.</b> Media del número de teliosporas de <i>T. frezii</i> colectadas en trampas cazaesporas y su error estándar, para las diferentes distancias de industrias maniseras de Alejandro Roca, General Deheza y Hernando en cinco fechas de colecta. ....	169

## Lista de Figuras

- Figura 1.1.** Ciclo de patogénesis de enfermedades monocíclicas. Adaptado de Amorin et al., 2015. Manual de Fitopatología. ....23
- Figura 1.2.** Escala según grados de severidad para el carbón del maní, donde: "0" = ambos granos sanos; grado "1" = un grano con una pequeña mancha o soro en una vaina normal o ligeramente deformada; grado "2" = vaina deformada o no, con un grano con una gran pústula o mitad afectado; grado "3" = un grano completamente carbonoso en una vaina deformada; y grado "4" = la totalidad de los granos completamente carbonosos en una vaina deformada. .... 30
- Figura 2.1.** Mapa del área manisera de la provincia de Córdoba. Las regiones 1, 2 y 3, corresponden a áreas históricas maniseras como zonas norte, centro y centro-sur de producción respectivamente. La región 4 corresponde al área de expansión de la producción de maní en la década del 2000. Fuente: Adaptado de March y Marinelli, 2005. .... 36
- Figura 2.2. A:** Esquema de años de evaluación según el momento de inoculación de la parcela con teliosporas de *T. frezii* para evaluar la capacidad de infección a través del tiempo. Los cuadros blancos representan cuadrantes de evaluación por año, las líneas verdes son líneas de plantas de maní sembradas, **B:** Los cuadrantes coloreados indican los años de inoculación y campañas evaluadas para los diferentes años de inoculación. .... 38
- Figura 2.3.** Esquema de experimento en macetas, indicando el número de macetas a evaluar y los años de inoculación de la enfermedad. .... 39
- Figura 2.4.** Distribución del índice de severidad del carbón del maní (DSI%) a través de los años de evaluación y duración de las teliosporas desde la inoculación, particionado según año de inoculación de teliosporas. El punto blanco representa la media con su desvío estándar y los puntos grises son observaciones. El área sombreada grafica el 95% de confianza alrededor de la línea punteada de tendencia. .... 41
- Figura 2.5.** Diferencias entre el índice de severidad del carbón del maní (DSI), para las tres repeticiones bajo momentos de inoculación diferentes durante 4 años de longevidad de teliosporas. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según test de comparación de medias Tukey ( $P < 0,05$ ). Los puntos grises representan observaciones, el punto negro las media con su límite de confianza. .... 43
- Figura 2.6.** Variación temporal del índice de severidad del carbón del maní (DSI). La línea negra continua representa la regresión lineal (ecuaciones incluidas según el año de inoculación) del DSI% en función de los años de duración de las teliosporas en el suelo desde la inoculación, para cada una de las repeticiones (años de inoculación), y el área sombreada grafica el 95% de confianza alrededor de la línea punteada de tendencia. .... 44
- Figura 2.7.** Análisis de diferencias entre el índice de severidad del carbón del maní (DSI), para los tres años de longevidad de las teliosporas en los dos momentos de inoculación. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según test de comparación de medias Tukey ( $P < 0,05$ ). Los puntos grises representan observaciones, el punto negro las media con su desvío estándar. .... 45
- Figura 3.1.** Área relevada en la provincia de Córdoba para el carbón del maní. **A:** Departamentos relevados (área gris) donde: RP: Río Primero; SM; Santa María; RS: Río Segundo; TA: Tercero Arriba; GSM: General San Martín; U: Unión; MJ: Marcos Juárez;

JC: Juárez Celman; RC: Río Cuarto; PRSP: Presidente Roque Sáenz Peña; GR: General Roca. <b>B:</b> Ubicación de cada lote relevado según el año que se tomó la muestra. ....	56
<b>Figura 3.2.</b> Diagrama que representa la media de la frecuencia relativa en los grados de severidad del carbón del maní según relevamientos entre 2015 y 2020.....	61
<b>Figura 3.3.</b> Diagrama de caja (Boxplot) que muestra la distribución de la frecuencia relativa de los grados de severidad del carbón del maní en los lotes relevados de 2015 a 2020. La línea sólida en las cajas representa la mediana, los puntos blancos la media, los límites inferiores y superiores de las cajas representan los percentiles 25 y 75 de los datos respectivamente, y los puntos negros representan valores atípicos (outliers). ....	62
<b>Figura 3.4.</b> Líneas de regresión para las relaciones entre la incidencia de los grados de severidad y la incidencia total del carbón del maní en lotes relevados del 2015 al 2020 en la provincia de Córdoba. Las líneas grises continuas representan las relaciones específicas del estudio, la línea azul continua representa la regresión lineal y el área sombreada gris representa el intervalo de confianza del 95%. ....	63
<b>Figura 3.5.</b> Regresión lineal de la incidencia de la enfermedad (izquierda) y vainas severamente afectadas (SDP) (derecha) en función del índice de severidad de la enfermedad (DSI) del carbón del maní en lotes relevados del 2015 al 2020 en la provincia de Córdoba. ....	64
<b>Figura 3.6.</b> Gráfico de caja (boxplot) del número de teliosporas por gramo de suelo para inóculo inicial e inóculo final, clasificados en función del porcentaje de vainas severamente afectadas. mostrando el incremento de las teliosporas. La línea sólida en las cajas representa la mediana, los límites inferiores y superiores de las cajas representan los percentiles 25 y 75 de los datos respectivamente, los puntos negros son observaciones. La línea gris sólida indica la conexión que existe entre el inóculo inicial y final del mismo lote, y la línea roja indica la conexión entre la media del inóculo inicial y el inóculo final para los lotes evaluados. ....	74
<b>Figura 4.1.</b> Ciclo de vida del carbón del maní causado por <i>Thecaphora frezii</i> .....	86
<b>Figura 4.2. A:</b> Clavos de maní previos al contacto con el suelo, y clavos excluidos dentro de tubos con arena sin contacto con el inóculo de <i>T. frezii</i> . <b>B:</b> Diferencias en el desarrollo de los clavos de maní al momento de ser colocados en suelo inoculado con teliosporas. El número indica el día en que se sometió el clavo al inóculo.....	89
<b>Figura 4.3.</b> Esquema del momento de exposición de los clavos a las teliosporas de <i>T. frezii</i> según el día desde el inicio del clavado, determinando los tratamientos para cada uno de los experimentos. ....	90
<b>Figura 4.4.</b> Proporciones acumuladas de los grados de severidad del carbón del maní, según el día que se expuso el clavo al inóculo de <i>T. frezii</i> , para el experimento 1.....	91
<b>Figura 4.5.</b> Proporciones acumuladas de los grados de severidad del carbón del maní, según el día que se expuso el clavo al inóculo de <i>T. frezii</i> , para el experimento 2.....	93
<b>Figura 4.6.</b> Regiones naturales de la provincia de Córdoba (Secretaría de ambiente 2014). ....	99
<b>Figura 4.7.</b> Pesaje de macetas para determinar la condición hídrica de suelo (CHS) de cada tratamiento (izquierda): Aleatorización de macetas en invernadero (derecha). ....	103

- Figura 4.8.** Índice de severidad del carbón del maní (DSI %) en plantas con déficit hídrico controlado. Variaciones según diferentes condiciones hídricas de suelo (CHS) durante un mes en la etapa reproductiva. Los puntos sólidos representan las medias, los puntos claros representan cada observación y las barras muestran la media  $\pm$  la desviación estándar. .. 107
- Figura 4.9.** Diferencias entre el índice de severidad del carbón del maní (DSI), para las diferentes condiciones hídricas de suelo (CHS) evaluadas. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según test de comparación de medias Tukey ( $P < 0,05$ ). Los puntos grises representan observaciones, el punto negro las media con su límite de confianza. .... 107
- Figura 4.10.** Precipitaciones diarias (mm) en registrados de diciembre a marzo (período del cultivo en crecimiento y desarrollo) para los años de estudio en cada sitio de ensayo (General Cabrera y General Deheza). .... 108
- Figura 4.11.** Diagrama de caja (Boxplot) que muestra la distribución del porcentaje de vainas severamente afectadas (SDP %) del carbón del maní para cada año en cada sitio (General Cabrera y General Deheza). La línea sólida en las cajas representa la mediana, los límites inferiores y superiores de las cajas representan los percentiles 25 y 75 de los datos respectivamente, los puntos grises son observaciones, los puntos blancos la media y los puntos negros representan valores atípicos (outliers). El área sombreada verde grafica las precipitaciones acumuladas en cada uno de los meses (diciembre a marzo) para cada año. .... 109
- Figura 4.12.** Diagrama de caja (Boxplot) que muestra la distribución de los grados de severidad 3 y 4 (vainas severamente afectadas) para cada año en cada sitio de estudio (General Cabrera y General Deheza). La línea sólida en las cajas representa la mediana, los límites inferiores y superiores de las cajas representan los percentiles 25 y 75 de los datos respectivamente y los puntos negros representan valores atípicos (outliers). .... 111
- Figura 4.13.** Correlaciones entre la precipitación estacional (períodos de lluvia) y los parámetros del carbón como índice de severidad de la enfermedad (DSI), incidencia, vainas severamente afectadas (SDP), vainas enfermas grado 3 y 4 y vaina ligeramente afectadas (LDP) obtenidos en los sitios de muestreo. Los números indican el coeficiente de correlación de Pearson, y el color grafica los valores de correlación, siendo tonos azulados para valores negativos y rojizos para valores positivos. Valores tachados significan una correlación no significativa ( $P > 0,05$ ). .... 113
- Figura 4.14.** Línea de tendencia de las incidencias de carbón del maní registradas en diferentes temperaturas medias en ensayos en condiciones controladas. Distribución del índice de severidad del carbón del maní (DSI %) en función de diferentes temperaturas medias ( $^{\circ}\text{C}$ ) evaluadas en ensayos en macetas. El punto blanco representa la media con su desvío estándar y los puntos grises son observaciones. El área sombreada grafica el 95 % de confianza alrededor de la línea punteada de tendencia. .... 117
- Figura 4.15.** Regresión lineal del índice de severidad del carbón del maní (DSI) en función de los promedios de las temperaturas mínimas, medias y máximas en los meses de enero, febrero y enero y febrero, obtenidos en diferentes lotes muestreados. Las líneas punteadas representan la línea regresora para lotes de alto inóculo de *T. frezii* en suelo (rojo) y bajo inóculo (celeste), los puntos son observaciones y el área sombreada grafica el 95 % de confianza alrededor de la línea punteada de tendencia. .... 118



<b>Figura 4.16.</b> Correlaciones entre los promedios de las temperaturas mínimas, medias y máximas y los parámetros del carbón como índice de severidad de la enfermedad (DSI), incidencia y vainas severamente afectadas (SDP) obtenidos en diferentes lotes muestreados, particionado por lotes de bajo, alto o alto y bajo inóculo de suelo de <i>T. frezii</i> . Los números indican el coeficiente de correlación de Pearson, y el color grafica los valores de correlación, siendo tonos azulados para valores negativos y rojizos para valores positivos. Valores tachados significan una correlación no significativa ( $P > 0,05$ ).....	120
<b>Figura 4.17.</b> Gráfico de violín de la distribución del índice de severidad del carbón del maní (DSI %) para las diferentes rotaciones de cultivos de los lotes evaluados en la campaña 2019-20. El diagrama de violín representa la densidad de las observaciones, la línea horizontal es la media y los puntos grises son las observaciones. ....	131
<b>Figura 4.18.</b> Diferencias entre el índice de severidad del carbón del maní (DSI), según el cultivo antecesor Soja (Sj) o Maíz (Mz), particionado según los años desde la última siembra de maní en cada lote. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según test de comparación de medias Tukey ( $P < 0,05$ ). Los puntos grises representan observaciones, el punto negro las media con su límite de confianza de 95%. ....	133
<b>Figura 5.1.</b> Polvo en suspensión generado por el avance de la maquinaria en la cosecha de maní. ....	148
<b>Figura 5.2.</b> Tipos de teliosporas de <i>Thecaphora frezii</i> , desde esporas individuales de un solo núcleo hasta cinco unidades agrupadas como glomérulos (esporas multinucleadas). Cada tipo de espora corresponde a una unidad de propágulo de dispersión.....	151
<b>Figura 5.3.</b> Ilustración de rosas de viento para todos los sitios observacionales (lotes), que muestra la velocidad y dirección del viento registradas en el momento de la cosecha de maní y toma de muestras. La notación $[\ ]$ representa un 'intervalo cerrado' que indica que el intervalo incluye valores inferiores y superiores, mientras que la notación $(\ ]$ representa 'intervalo semi abierto' que indica que el intervalo es exclusivo del valor inferior pero inclusivo del valor superior.....	156
<b>Figura 5.4. A:</b> Diámetro medio y su desviación estándar para el tamaño de cada tipo de teliospora de <i>Thecaphora frezii</i> (número según núcleos agrupados como glomérulos). <b>B:</b> Proporción de cada tipo espora, para muestras recolectadas a favor del viento durante 90 minutos desde el inicio de cosecha, de 0 a 400 m de distancias desde el centroide del área de cosecha de maní. ....	157
<b>Figura 5.5.</b> Número medio de esporas dispersadas (teliosporas/cm <sup>2</sup> ) registrados para cada lote de cosecha de maní a cada distancia, a 100, 200, 300 y 400 metros del centroide del lote de cosecha donde 'n' (indicado por el tamaño del punto) representa el número medio de esporas que quedaron atrapadas en ese lugar.....	158
<b>Figura 5.6.</b> Modelo aditivo generalizado (GAM) adecuado para términos suavizados de cuatro predictores: ubicación de la trampa caza-esporas en relación con el centroide del lote de cosecha en coordenadas x, y (m); tiempo de recolección de esporas de cada trampa (min); grado de dirección del viento en función de la ubicación de la trampa de esporas; distancia de la trampa de esporas (m) desde el centroide del área de cosecha; y los efectos aleatorios del lote y la ubicación de cada trampa de esporas para cada lote respectivamente. ....	159
<b>Figura 5.7.</b> Vientos predominantes y ubicación de trampas cazaesporas (puntos rojos) a diferentes distancias de industrias maniseras en General Deheza, Hernando y Alejandro Roca .....	167

**Figura 5.8.** Gráfico de dispersión de las esporas colectadas en diferentes tiempos de colecta y a diferentes distancias desde las industrias procesadoras de maní de Alejandro Roca, General Deheza y Hernando. Los puntos representan la media de las observaciones y las barras su error estándar. **A:** Cada industria presenta su propia escala (eje “y”) para observar las diferencias colectas en cada industria. **B:** Misma escala para cada una de las industrias, comparando las diferencias en las colectas de cada industria. .... 170

**Figura 5.9.** Modelo aditivo generalizado (GAM) del efecto parcial para los términos de temporalidad como fecha de colecta y espacialidad como distancia de cada trampa desde la industria (m) y los efectos aleatorios de cada sitio correspondiente a cada planta de procesamiento. .... 171

## Lista de abreviaturas y/o símbolos

%: por ciento	INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
°C: grados centígrados	IPAVE: Instituto de Patología Vegetal
$\Sigma$ : sumatoria	lat.: latitud
$f$ : frecuencia	LDP: vainas ligeramente afectadas
$\pm$ : más menos	long.: longitud
$\mu\text{g}$ : microgramos	m: metro
$\mu\text{l}$ : microlitros	MAGyP: Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca
$\beta_0$ : Ordenada al origen	$\text{m}^2$ : metro cuadrado
$\beta_1$ : Pendiente	mg: miligramos
$e$ : residuos del modelo	ml: mililitros
$u$ : efectos aleatorios	mm: milímetro
$\tau^2$ : varianza	NE: Noreste
CIAP: Centro de Investigaciones Agropecuarias	NO: Noroeste
cm: centímetro	$n^\circ$ : número
$\text{cm}^3$ : centímetros cúbicos	PDA: Potato Dextrosa Agar
C.V.: coeficiente de variación	Pte.: presidente
D.E.: desviación standard	$Q_0$ : inóculo inicial
dpto.: departamento	$Q_1$ : inóculo final
DSI: índice de severidad	SC: Suspensión concentrada
E.E.: error standard	SDP: vainas severamente afectadas
esp. $\text{g}^{-1}$ suelo: teliosporas por gramo de suelo	sp.: especie
g: gramos	spp.: especies
GAM: Modelo aditivo generalizado	t: tonelada
GLM: Modelos lineales generalizados	Test: testigo
ha: hectárea	Trat.: tratamiento
IGS: Incidencia grado de severidad	U\$\$: dólar
INASE: Instituto Nacional de Semilla	v/v: Porcentaje volumen/volumen

## INTRODUCCIÓN GENERAL

El maní (*Arachis hypogaea* L.) es una planta herbácea de fructificación anual, de porte erecto, semierecto o rastrero, dependiendo de la variedad. Es una leguminosa cuyo centro de origen se encuentra en Sudamérica, específicamente en el sureste de Bolivia y el noroeste de Argentina, donde las especies parentales se encuentran en hábitat silvestres (Hammons et al., 2016). Una característica única de *A. hypogaea* es su floración aérea y fructificación bajo tierra, dando origen a las vainas, órgano de reproducción y cosecha (Smith 1950; Giayetto 2017).

La importancia de la producción de maní a nivel mundial está dada principalmente en zonas tropicales, subtropicales y templadas de Asia, América y África. El maní es usado principalmente como alimento humano de forma directa (grano), con diversos subproductos, o de manera indirecta (manteca, aceite); además puede ser utilizado como pellet o como forraje para la alimentación animal (Singh and Singh 1992; Hammons et al., 2016).

La producción mundial de maní en los últimos años osciló entre 40 y 43 millones de toneladas (Hammons et al., 2016; Agüero 2017; Fernandez 2017), siendo en el año 2022 de 48,7 (FAO 2022). El ranking de los principales países productores está liderado por China (36 %), India (13,7 %), Nigeria (9 %) y Estados Unidos (5,7 %), Argentina se encuentra en el 8° puesto con aproximadamente el 2,7% de la producción mundial (FAO 2022). Los principales exportadores mundiales de maní durante el 2020 fueron Argentina (21,9 %), India (15%) y Estados Unidos (14,6%), donde las exportaciones de China (5,2%) cayeron un 22,3 % (principal exportador históricamente) (Workman 2022). Los principales mercados importadores son países de la Unión Europea, China, Indonesia, Rusia y Vietnam (Workman 2022).

El cultivo de maní es uno de los cultivos regionales de mayor importancia para la agricultura argentina y representa una pieza especial dentro de la matriz productiva nacional. Argentina es uno de los principales exportadores de maní, cuyo principal comprador es el mercado europeo (principalmente Holanda, Alemania, España, Italia, Grecia y Francia). La calidad del maní argentino es reconocida por los mercados internacionales (Giletta y

Bongiovanni 2012). El maní argentino ha logrado prestigio internacional que lo posiciona como uno de los de mayor calidad mundial, destinando casi la totalidad de la producción industrializada (90 %) a los mercados internacionales (Giletta y Bongiovanni 2012; Agüero 2017). En los últimos años, se ha visto un fuerte incremento del mercado interno, fomentando el consumo local, impulsado por programas de la cadena argentina de maní principalmente (Calzada y Rozadilla 2018).

El cultivo de maní está localizado fuertemente en el área central del país, donde la provincia de Córdoba produce aproximadamente el 90 % del total nacional (Angelo et al., 2021). En otras provincias como La Pampa, San Luis, Buenos Aires y Salta, el cultivo de maní se presenta en menor escala, las hectáreas sembradas anualmente no son regulares (alta variación interanual), y muchas veces tienen rendimientos erráticos (Sergio Morichetti, *com. per.*). El área manisera en la provincia de Córdoba está localizada principalmente en el centro y sur de la provincia, donde los principales departamentos productivos de maní son General Roca, Río Cuarto, Juárez Celman y Presidente Roque Sáenz Peña (Agüero 2017; Calzada and Rozadilla 2018). El promedio de producción de maní para estos departamentos en las últimas campañas agrícolas (2017-18 al 2020-21) fue de 750.000 tn, totalizando un 74% y un 62% de la producción provincial y nacional respectivamente (Angelo et al., 2021; M.A.GyP 2022). Además, en la provincia de Córdoba se asienta la totalidad de la industria procesadora (plantas de secado, clasificadoras, blanchado, etc.) y las fábricas aceiteras. La industria manisera genera gran cantidad de puestos de trabajo en sus 25 plantas de procesamiento. La ocupación de fuentes laborales de manera directa es superior a los 3.000 trabajadores. Si se consideran actividades secundarias de trabajos indirectos, el número de empleos supera las 12.000 (Cámara Argentina del maní 2022)

El sistema productivo de maní en Argentina está en un avance continuo en tecnología y procesos (Angelo et al., 2021). La tecnificación ha llevado a optimizar los recursos y aumentar los rendimientos, mejorando la competitividad del cultivo (Giayetto 2017). El enfoque productivo de mejora continua se observa tanto a nivel industrial, como en la producción primaria. El manejo de las limitantes edáficas, de malezas y enfermedades, sentaron bases para el desarrollo de modelos tecnológicos optimizados de labranza y rotaciones (Cisneros et al., 2017). El sistema de producción de maní en Argentina busca un esquema de rotación de cuatro años en la secuencia de cultivos. Los beneficios de una rotación de al menos cuatro años están basados en la recuperación de suelo, impulsados por

la siembra directa, la menor erosión hídrica y eólica, y la menor presión de enfermedades respetando las restricciones en el cuidado del ambiente (Cisneros et al., 2017). La necesidad de suelos libres para este planteo productivo dificulta la disponibilidad de lotes que coincidan en este esquema. En este sentido, durante los últimos 15 años se observa una expansión de la producción de maní hacia provincias limítrofes como San Luis, La Pampa, Santa Fe o Buenos Aires, en busca de nuevas áreas productivas. De igual manera, Córdoba continúa siendo la principal provincia productora de maní.

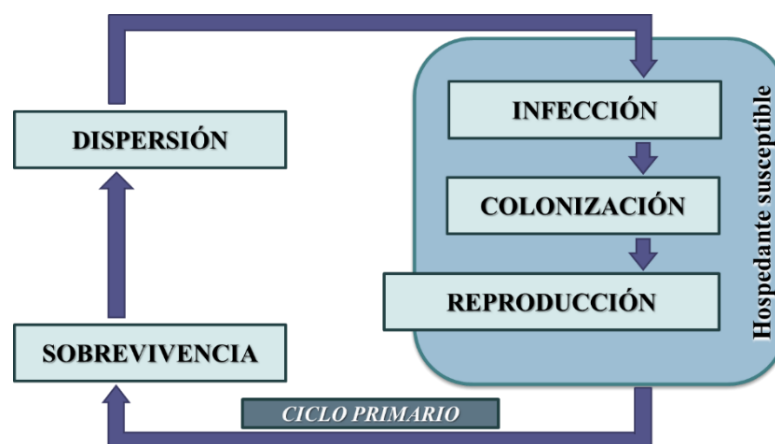
El cultivo de maní, tal como otros cultivos de producción extensiva, es afectado por diversos problemas sanitarios. Las mayores pérdidas registradas en el área manisera argentina fueron ocasionadas por patógenos de suelo (March y Marinelli 2005; Oddino et al., 2007). Las enfermedades fúngicas del rizoplano de mayor importancia histórica en nuestra región son el tizón del maní (*Sclerotinia minor* y *S. sclerotiorum*), el marchitamiento (*Sclerotium rolfsii*), la podredumbre parda de la raíz (*Fusarium solani*) y el carbón del maní (*Thecaphora frezii*) (Marinelli et al., 1998; March y Marinelli 2005).

En Argentina, el carbón del maní causado por *Thecaphora frezii* Carranza & Lindquist (Carranza y Lindquist, 1962), es la enfermedad de mayor incremento en su prevalencia e intensidad en la última década, generando gran preocupación en el sector manisero (Rago et al., 2017). *T. frezii* es una especie fúngica perteneciente a la clase *Ustilaginomycetes*. Es un organismo biotrófico que produce infección y colonización local en el ginóforo. Posterior a la polinización, la planta de maní inicia la elongación del ginóforo fecundado conocido como “clavo” con dirección al suelo. La infección ocurre cuando el clavo penetra el suelo y estimula la germinación de las teliosporas de *T. frezii* ubicadas en él, iniciando así el proceso de infección (Astiz Gasso et al., 2008; Marinelli et al., 2008). La infección generalmente provoca alteraciones en el crecimiento de la vaina (hipertrofia), colonizando y transformando la semilla en desarrollo en forma total o parcial en una masa carbonosa de esporas (Marinelli et al., 2008, 2010; Marraro Acuña et al., 2012).

El carbón es una enfermedad que actualmente se encuentra distribuida en todos los lotes donde se cultiva maní en la provincia de Córdoba, según datos de relevamientos realizados en las últimas campañas (Paredes et al., 2021b). Desde que inició su reporte en lotes comerciales de maní en el año 1995 (Marinelli et al., 1995), logró posicionarse en la mirada de productores e investigadores a nivel nacional y mundial (Marinelli et al., 2008;

Rago et al., 2017). Los registros de la enfermedad van en creciente aumento a través del tiempo, lo que genera gran preocupación en los productores locales. Al generar como síntoma una transformación de los granos dentro de las vainas, el carbón afecta directamente al órgano de cosecha que genera el rendimiento del cultivo. De esta manera se observa una estrecha relación entre la intensidad de la enfermedad y las pérdidas ocasionadas. En casos particulares de lotes muy afectados, las pérdidas de rendimiento estimadas por carbón pueden ser superiores al 35% (Paredes 2017). En la campaña 2016/17, se estimaron pérdidas de rendimiento de maní causadas por carbón de 27.419 millones de toneladas (equivalentes a US\$ 14.151.800), representando aproximadamente el 3,15% de la producción total de maní en grano en esa campaña a nivel nacional (Paredes 2017).

Según estudios de fitopatología clásica, las enfermedades tienen una estrecha relación según el patógeno, el hospedante y el ambiente (Agrios, 2005). Características propias de la biología de cada patógeno genera en cada patosistema diferentes tipos de interacciones con el hospedante. El ciclo de patogénesis comprende una serie de eventos encadenados que llevan a la multiplicación y supervivencia del patógeno y durante los cuales interacciona con la planta susceptible dando lugar al desarrollo de la enfermedad (Amorim et al., 1995; Agrios, 2005; Moral 2020) (Figura 1.1). Cada patógeno tiene ciertas particularidades dentro de cada etapa del ciclo de patogénesis que puede influir en las características propias de la enfermedad. La comprensión de los procesos y de cada etapa en especial, sumado a componentes epidemiológicos, provee información que promueven a mejores y más eficientes herramientas en el monitoreo y en el manejo de las enfermedades (Campbell y Madden 1990; March et al., 2010).



**Figura 1.1.** Ciclo de patogénesis de enfermedades monocíclicas. Adaptado de Amorin et al., 2015. Manual de Fitopatología.

El carbón es una enfermedad monocíclica, es decir, causa solo una infección en el órgano susceptible durante el ciclo de cultivo, sin la generación de inóculo secundario que reinfecte al hospedante en la misma campaña. A su vez, es una enfermedad poliética, ya que las esporas se acumulan en los suelos año tras año desencadenando mayores concentraciones de inóculo (Rago et al., 2017). Como toda enfermedad monocíclica, uno de los parámetros que mejor explica la epidemia es la cantidad de inóculo inicial (Campbell y Madden 1990; March et al., 2010). En este sentido, la incidencia de la enfermedad dependerá principalmente de la cantidad de teliosporas presentes en el suelo al momento de la siembra del cultivo de maní (Paredes et al., 2017, 2019; Conforto et al., 2019).

Características propias de este patosistema lograron la adaptación y permanencia del carbón en lotes productivos (Rago et al., 2017; Paredes et al., 2021b). Al no presentar síntomas en la parte aérea, el carbón pasó desapercibido por muchos años de la mirada de técnicos y productores. *T. frezii* es un hongo habitante de suelo, posee esporas de resistencia que permanecen libres en el suelo sin disminuir su capacidad de infección durante al menos cuatro años (Cazón et al., 2016). Las vainas carbonosas producen millones de teliosporas que aumentan gradualmente el inóculo en los suelos. Esto fue aumentando la presión de la enfermedad observada año tras año. La maquinaria agrícola y las semillas de maní pueden estar contaminadas por esporas de *T. frezii* y también contribuyen a la dispersión del patógeno, como ocurre con diversos patógenos de suelo (Rowe et al., 1977; Rekah et al., 1999; Katan 2017). La semilla de maní contaminada con esporas de *T. frezii* permitió la dispersión de la enfermedad en toda el área manisera rápidamente (Oddino et al., 2007; Marinelli et al., 2010). El aumento de la prevalencia de la enfermedad, indica que la semilla contaminada ha sido el principal vehículo de introducción en las distintas regiones productoras (Marinelli et al., 2010; Cazón 2015). Dado el tamaño de las teliosporas, el viento también es un factor importante en la dispersión. Al realizarse las operaciones de arrancado y trilla, vainas afectadas pueden romperse y liberar grandes cantidades de esporas, que junto con la tierra y polvo que acompañan estas operaciones de cosecha, pueden ser llevadas por las corrientes de aire y depositadas en lotes circundantes.

Las infecciones por carbón representan un elevado incremento en las teliosporas generadas por la enfermedad, aumentando el riesgo de generar futuras infecciones en cada campaña agrícola (Paredes et al., 2021b). Bajos contenidos de inóculo inicial incrementarán año tras año los niveles de infestación. Lotes donde no se realizaron estrategias para prevenir



las infecciones de carbón (en un principio bajas), fueron incrementando los niveles de inóculo (Paredes 2017). Sin embargo, la cantidad de esporas presentes en los suelos puede variar de un lote a otro. Esto se ve reflejado en las incidencias de la enfermedad registradas en relevamientos de la situación sanitaria del carbón en la provincia. Actualmente hay registros variables en lotes comerciales de maní, desde incidencias menores a 1% hasta superiores a 40% (Paredes et al., 2021b). Estas diferencias dependen en gran medida, de las características productivas y del historial de cada lote en particular (Asinari et al., 2019). Además, se observan los mayores valores de intensidad de la enfermedad y por lo tanto mayores pérdidas producidas en la región central de la provincia de Córdoba, área donde se ubican la mayoría de las industrias procesadoras de grano. Las industrias actúan como un importante centro de dispersión de esporas, lo que podría tener implicancias en la mayor presión de la enfermedad al contaminar lotes circundantes, sumado a la cantidad de años de cultivo de maní en la región. Al sur de la provincia de Córdoba se registraron los menores valores de incidencia de carbón, sin embargo, se observa un incremento preocupante en la intensidad de la enfermedad en los últimos años (Paredes et al., 2016; Paredes 2017; Asinari et al., 2019).

Entre las razones del aumento de la intensidad de la enfermedad se encuentra la falta de adopción de estrategias de manejo para el control del carbón y la escasa diversificación de cultivares en las áreas de siembra (Rago et al., 2017). Los cultivares de maní mayormente sembrados son susceptibles al carbón y continúan siendo ampliamente utilizados, donde ‘Granoleico’ (altamente susceptible) es el de mayor superficie sembrada, utilizado en más del 50% de la superficie manisera Argentina (SISA 2021). Los programas de mejoramiento están en continua selección de germoplasma para evaluar tanto la tolerancia como la resistencia de diferentes líneas y variedades de maní (Bressano et al., 2019; Wann et al., 2020; Bennett et al., 2021; Kearney et al., 2021). En los últimos años se han registrado pocos cultivares comerciales con resistencia al carbón como el ‘EC-191 RC (AO)’ [RESOL-2019-108-APN-INASE#MAGYP] o de buen comportamiento al carbón como el ‘MA-757’ [(INASE Reg. No. 17240] (Oddino et al., 2013; Wann et al., 2020). La superficie ocupada por dichas variedades no es significativa en relación a la que actualmente se cultiva con la variedad más predominante. La adopción por parte de los agricultores es baja debido a varios factores, como la multiplicación de semillas para obtener cantidades suficientes de semilla comercial, el rendimiento del cultivo u otras características agronómicas. El desafío para los

programas de mejoramiento es identificar genes de resistencia en germoplasma silvestre y cultivado para obtener cultivares resistentes de alto rendimiento, reducir la producción de teliosporas y retrasar la propagación del carbón (Rago et al., 2017; Bressano et al., 2019; De Blas et al., 2019; Wann et al., 2020; Bennett et al., 2021).

Es factible el manejo de las enfermedades basado en estrategias que actúen sobre diferentes parámetros epidemiológicos, limitando los daños a niveles aceptables (March et al., 2010). Sin embargo, el carbón es una enfermedad de difícil control. Diversas estrategias se han evaluado y están en continua experimentación para el manejo de la enfermedad. Entre ellas se encuentran control biológico (Ganuza et al., 2018; Valetti et al., 2018, 2021), efecto de rotaciones y enmiendas (Nicolino et al., 2016), herramientas químicas (Marinelli et al., 2010; Paredes et al., 2015a, b; Rago et al., 2017), pero con resultados erráticos y no del todo contundentes. Entre las estrategias de mejor eficiencia se encuentra el uso de fungicidas (Cazón et al., 2018; Camiletti et al., 2021; Paredes et al., 2021a). En el año 2018 se registró un fungicida sistémico con acción curativa y preventiva, específicamente para controlar el carbón del maní (IRIDIUM<sup>®</sup>), mezcla de dos moléculas de triazoles (triadimenol 30% + miclobutanil 20 % p/v, SC). Sin embargo, la efectividad muchas veces es errática, con alta variabilidad y no las esperables en la mayoría de los casos. Ninguna estrategia ha logrado hasta el momento adoptarse en el sector productivo como práctica habitual (Rago et al., 2014, 2017; Paredes et al., 2021b). De igual manera, se continúa arduamente en la búsqueda de las mejores herramientas de manejo para la enfermedad.

La prevención es una de las estrategias de mayor importancia en el manejo integrado de enfermedades. Estrategias de prevención o erradicación tienen un mayor impacto, entendiendo que las poblaciones iniciales de patógenos son el componente más importante en enfermedades monocíclicas (March et al., 2010). Al momento de la implantación del cultivo de maní, la elección de lotes con bajo inóculo de *T. frezii* es fundamental (Rago et al., 2017). De esta manera, se estará sometiendo al cultivo a una baja presión de inóculo, lo que resultará en menores incidencias de la enfermedad. Además, el conocimiento de la incidencia de carbón esperada en el ciclo de cultivo cobra importancia para la toma de decisión de realizar alguna estrategia de control, como el uso de fungicidas (Paredes et al., 2019). Sumado a esto, los registros de la situación fitosanitaria permitirían interpretar el estado de avance o áreas de mayor presión de enfermedad (Asinari et al., 2019; Paredes et al., 2021b). Además, es necesario seleccionar estrategias de manejo dirigidas a focos o

regiones de alta intensidad, a fin de disminuir las infecciones de carbón, evitar el avance de la enfermedad hacia zonas de menor incidencia o evitando futuras pérdidas de producción. Es necesario contar con una metodología sensible, rápida y efectiva, para determinar la densidad de teliosporas de *T. frezii* en los lotes productivos de maní, como herramienta fundamental para la decisión de implementar estrategias de control (Conforto et al., 2019).

A pesar de ser la enfermedad que ha cobrado mayor relevancia para el sector manisero argentino en los últimos años, el conocimiento del patosistema es deficiente (Paredes 2017; Rago et al., 2017). Si bien están en curso diferentes investigaciones, todavía no se logran cubrir aspectos relacionados a la biología del patógeno, indispensables para desarrollar estrategias de manejo eficientes. Considerando la importancia del cultivo del maní para la provincia de Córdoba y el marcado incremento en la intensidad del carbón, es prioritario generar información de calidad para el desarrollo de herramientas de control. De esta manera, distintas estrategias de manejo pueden ser generadas como base para disminuir la intensidad de la enfermedad en el cultivo. El maní argentino cumple un rol fundamental como economía regional, industrial y de generación de mano de obra, y lograr mantener la productividad y calidad distintivas del maní de Córdoba es el desafío fundamental.

## **HIPÓTESIS**

Es posible describir las etapas del ciclo de patogénesis del carbón del maní, caracterizando aspectos epidemiológicos de la enfermedad, lo cual permitirá desarrollar estrategias de manejo eficientes que puedan ser implementadas por el sector productivo, asegurando resultados económicos y ambientalmente viables.

## **OBJETIVO GENERAL**

Establecer características de la biología y epidemiología de *Thecaphora frezii*, agente causal del carbón del maní, determinando aspectos de los componentes del ciclo de patogénesis.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

### 1- SOBREVIVENCIA de las teliosporas de *T. frezii*

- Evaluar la sobrevivencia de las teliosporas de *T. frezii* según la capacidad de infección en el tiempo en condiciones de campo e invernadero.

### 2- REPRODUCCIÓN de *T. frezii*

- Analizar la distribución de los grados de severidad en las infecciones de carbón en cultivos de maní
- Cuantificar la evolución del inóculo de *T. frezii* posterior a un ciclo del cultivo.

### 3- INFECCIÓN Y COLONIZACIÓN de *T. frezii* en *A. hypogaea*

- Determinar el momento de mayor susceptibilidad de *A. hypogaea* a la infección por *T. frezii*, durante el tiempo de clavado y su relación con la severidad de la enfermedad.
- Explorar las condiciones de humedad y temperatura del suelo que favorezcan el proceso de infección de *T. frezii* sobre *A. hypogaea*.
- Establecer el efecto de los rastros de cultivos en el proceso de infección de *T. frezii* sobre *A. hypogaea*.

### 4- DISPERSIÓN de teliosporas de *T. frezii*

- Modelar el flujo de dispersión de teliosporas por el viento durante la cosecha de maní en condiciones de campo.
- Evaluar la dispersión espacio-temporal de teliosporas de *T. frezii* en escala regional, valorando la importancia de las plantas de procesamiento de maní como fuente de dispersión de teliosporas.

## MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES

### Parametrización de la enfermedad

Durante el desarrollo de la tesis fueron utilizadas diversas métricas y variables para la cuantificación de la enfermedad del carbón del maní. Las fórmulas son descriptas en este capítulo para ser referidas cuando sea necesario.

La prevalencia de la enfermedad está caracterizada como el porcentaje de campos con presencia de la enfermedad (al menos una vaina con carbón) sobre el total de campos muestreados.

La intensidad del carbón del maní se caracterizó por la incidencia de la enfermedad (porcentaje de vainas enfermas del total de vainas muestreadas) y la severidad (proporción de tejido de la vaina dañado). La severidad del carbón se determinó mediante una escala de cinco clases, en la que se consideró el estado del daño de las vainas individuales, según el grado de enfermedad se clasificó como: "0" = ambos granos sanos; grado "1" = un grano con una pequeña mancha o soro en una vaina normal o ligeramente deformada; grado "2" = vaina deformada o no, con un grano con una gran pústula o mitad afectado; grado "3" = un grano completamente carbonoso en una vaina deformada; y grado "4" = la totalidad de los granos completamente carbonosos en una vaina deformada (Astiz Gasso et al., 2008; Rago et al., 2017). El índice de severidad de la enfermedad (DSI, por sus siglas en inglés “disease severity index”) se calculó de acuerdo a la ecuación 1.1.

$$DSI (\%) = \left\{ \frac{\sum(n \times \text{grado de severidad})}{(N \times 4)} \right\} \times 100 \quad (1.1)$$

donde  $n$  es el número de vainas de cada grado de severidad,  $N$  es el número total de vainas de la muestra y 4 es el número máximo de grados de la escala de severidad.

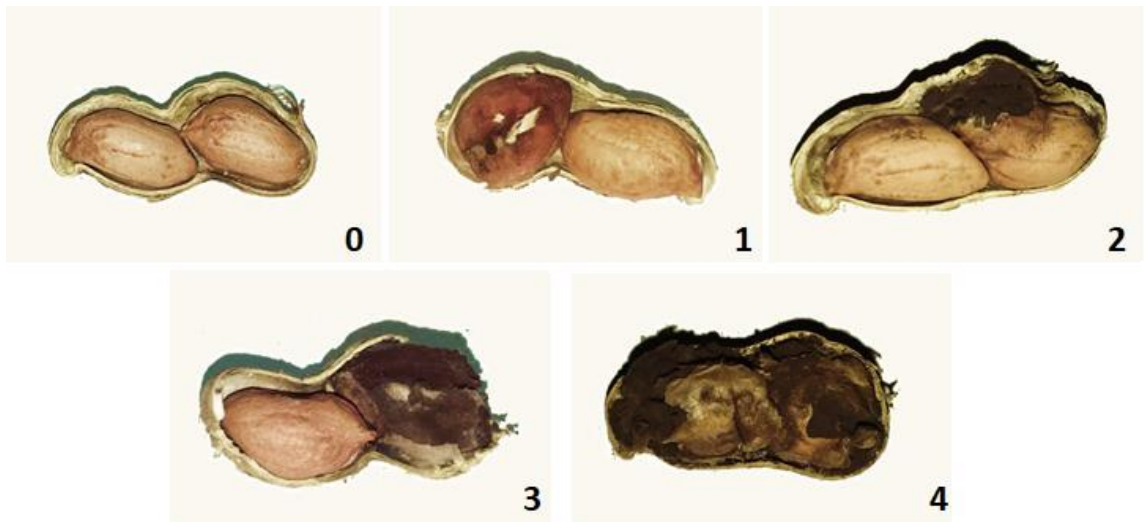
Métricas arbitrarias son incluidas para distintos análisis: i) vainas ligeramente afectadas (LDP, por sus siglas en inglés “low damaged pods”), las cuales incluyeron la proporción de vainas de grado 1 y 2; y ii) vainas severamente afectadas (SDP, por sus siglas en inglés “severely damaged pods”) que representan la proporción de vainas de grado 3 y 4 (Paredes et al., 2021a).

A su vez, las distribuciones de los grados de severidad se calcularon como la incidencia de cada uno de los grados de severidad (IGS) (1.2), expresada como un porcentaje del número total de vainas infectadas, y la frecuencia relativa de los grados de severidad de la enfermedad ( $fGS$ ) (1.3):

$$IGS_x (\%) = (n_x / N) \times 100 \quad (1.2)$$

$$fGS_x = (n_x) / N_i \quad (1.3)$$

donde  $N$  es el tamaño de la muestra,  $N_i$  es el total de vainas afectadas en la muestra,  $n$  es el número de vainas correspondientes a cada grado de severidad de la enfermedad (0-4) y  $n_x$  es el número de vainas correspondientes a la  $x$ -ésima grado de severidad.



**Figura 1.2.** Escala según grados de severidad para el carbón del maní, donde: "0" = ambos granos sanos; grado "1" = un grano con una pequeña mancha o soro en una vaina normal o ligeramente deformada; grado "2" = vaina deformada o no, con un grano con una gran pústula o mitad afectado; grado "3" = un grano completamente carbonoso en una vaina deformada; y grado "4" = la totalidad de los granos completamente carbonosos en una vaina deformada.

## BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO

- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition. Elsevier Academic Press, London, UK. 922 p.
- Agüero D. (2017). Mercado internacional y nacional del maní. En Fernandez E, Giayetto O (Eds.) *El cultivo de maní en Córdoba*, Departamen. Pp. 411–433.
- Amorim, L., Bergamin Filho, A., Rezende, J.A.M. (1995). *Manual de Fitopatología: Principios e Conceitos*. Vol.1. São Paulo, Brazil: Agronômica Ceres
- Angelo, G.D., Ferrari, B., Calzada, J. (2021). Un nuevo unicornio: el maní argentino. Informativo semanal de la Bolsa de Comercio de Rosario
- Asinari, F., Paredes, J.A., Monguillot, J.H., Rago, A.M. (2019). Últimos años de registros del carbón del maní, ¿hacia dónde vamos? En XXXIV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- Astiz Gasso, M., Leis, R., y Marinelli, A. (2008). Evaluación de incidencia y severidad del carbón de maní (*Thecaphora frezii*) en infecciones artificiales, sobre cultivares comerciales de maní. In 1 *Congreso Argentino de Fitopatología*. p (Vol. 161).
- Bennett, R. S., Rodriguez, A. V., Baldessari, J. J., Chamberlin, K. D., Payton, M. E., y Wang, N. (2021). A Note on the Association Between *Thecaphora frezii* Infection and Peanut Pod Density. *Peanut Science*, 48(1), 54-60.
- Bressano, M., Massa, A. N., Arias, R. S., de Blas, F., Oddino, C., Faustinelli, P. C., Soave, S., Soave, J.H., Pérez, M.A., Sobolev, V.S., Lamb, M.C., Balzarini, M., Buteler, M.I., & Seijo, J. G. (2019). Introgression of peanut smut resistance from landraces to elite peanut cultivars (*Arachis hypogaea* L.). *Plos one*, 14(2), e0211920
- Calzada J. y Rozadilla, B. (2018) Argentina líder en exportaciones del complejo de Maní. Informativo semanal de la Bolsa de Comercio de Rosario
- Cámara Argentina del maní (2022). *Clúster manisero*. Recuperado de <https://camaradelmani.org.ar/cluster-manisero>
- Camiletti, B. X., Paredes, J. A., Monguillot, J. H., Grosso, N. R., & Rago, A. M. (2021). Fungicide efficacy of nanocrystal-based formulations against peanut smut. *Crop Protection*, 143, 105522.
- Campbell C., & Madden, L. (1990). *Introduction to plant disease epidemiology*. Wiley, New York, USA.
- Carranza, J. M., & Lindquist, J. C. (1962). *Thecaphora frezii* sp., parásita de *Arachis* sp. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 10(1), 11-18.
- Cazón L.I., Paredes, J.A., Bisonard, M., Rago, A.M. (2016). Capacidad de infección de *Thecaphora frezii* en el tiempo. En XXXI Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. p. 52
- Cazón, L. I., Paredes, J. A., y Rago, A. M. (2018). The biology of *Thecaphora frezii* smut and its effects on argentine Peanut production. *Advances in Plant Pathology*. London: IntechOpen Ltd, 31-46.
- Cazón, L.I. (2015). *Detección molecular de Thecaphora frezii Carranza & Lindquist en semillas de maní (Arachis hypogaea L.)*. Tesis de maestría no publicada, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina

- Cisneros, J.M., Giayetto, O., Cholaky, C.G., Cerioni, G.A., Cantero Gutiérrez, A., Uberto, M.E (2017). Suelos, rotaciones y labranzas. En Fernandez EM, Giayetto O (Eds.), *El Cultivo del Maní en Córdoba*, 2da edn. (165 – 182). Río Cuarto, Argentina: Editorial de la Universidad
- Conforto, C., Dumon, A.D., Bernardi Lima N., Paredes, J.A., Monguillot, J.H., Serri, D.L., Vargas Gil, S.1,2,3 y Rago, A.M (2019). Avances en la detección de *Thecaphora frezii* en muestras de suelo. XXXIV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- de Blas, F.J., M. Bressano, I. Teich, M.G. Balzarini, R.S. Arias, M.M. Manifesto, B.P. Costero, C. Oddino, S.J. Soave, J.A. Soave, M.I. Buteler, A.N. Massa, and J.G. Seijo. (2019). Identification of smut resistance in wild *Arachis* species and its introgression into peanut elite lines. *Crop Sci.* 59:1657–1665.
- FAO (2022). *Faostat*. Recuperado de: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QV>.
- Fernandez, D.V. (2017). *Situación Mercado del maní*. Recuperado de: [https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/ss\\_mercados\\_agropecuarios/areas/regionales/\\_archivos/000030\\_Informes/000050\\_Man%C3%AD/000009\\_Situaci%C3%B3n%20Mercado%20del%20Man%C3%AD%20Junio%20-%202017.pdf](https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/ss_mercados_agropecuarios/areas/regionales/_archivos/000030_Informes/000050_Man%C3%AD/000009_Situaci%C3%B3n%20Mercado%20del%20Man%C3%AD%20Junio%20-%202017.pdf)
- Ganuzza, M., Pastor, N., Erazo, J., Andrés, J., Reynoso, M. M., Rovera, M., & Torres, A. M. (2018). Efficacy of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* ITEM 3636 against peanut smut, an emergent disease caused by *Thecaphora frezii*. *European Journal of Plant Pathology*, 151(1), 257-262.
- Giayetto, O. (2017). Origen, historia y clasificación. En Fernandez EM, Giayetto O (Eds.), *El Cultivo del Maní en Córdoba*, 2da edn. (27–33). Río Cuarto, Argentina: Editorial de la Universidad
- Giletta, M.A., Bongiovanni, R. A. (2012). Panorama mundial del maní, situación y perspectivas para el sector en Argentina. En: Bongiovanni R, Morandi J, Troilo L (Eds.) *Competitividad y calidad de los cultivos industriales*, (101–118). Córdoba, Argentina: INTA Ediciones.
- Hammons, R. O., Herman, D., & Stalker, H. T. (2016). Origin and early history of the peanut. En: Stalker, H. T., & Wilson, R. F. (Eds.) *Peanuts*, (1-26). AOCS Press.
- Katan, J. (2017). Diseases caused by soilborne pathogens: biology, management and challenges. *Journal of Plant Pathology*, 305-315.
- Kearney, M., Zuza, M., Ibañez, M., Peralta, V., Peiretti, G., Alcalde, M., Mojica, C., & Rago, A. (2021). Response of peanut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes to smut (*Thecaphora frezii*) in the peanut growing region of Argentina. *Peanut Science*, 48(1), 61-67.
- M.A.GyP (2022) *Estimaciones Agrícolas*. Recuperado de: <http://datosestimaciones.magyp.gob.ar/reportes.php?reporte=Estimaciones>
- March G.J., Marinelli, A.D. (2005). Enfermedades del maní en la Argentina. Córdoba, Argentina: Bliaglia Impresores.
- March, G.J., Oddino, C.M. y Marinelli, A.D. (2010). Manejo de enfermedades de los cultivos según parámetros epidemiológicos. Córdoba, Argentina: Biglia Impresores. 193 pp.



- Marinelli, A., March, G. J., Rago, A., & Giuggia, J. (1998). Assessment of crop loss in peanut caused by *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. minor*, and *Sclerotium rolfsii* in Argentina. *International journal of pest management*, 44(4), 251-254.
- Marinelli, A., March, G., Oddino, C., Garcia, J., Rago, A., y Zuza, M. (2010) El carbón del maní de 1995 a 2010 de enfermedad emergente a enfermedad endémica y epidémica. En XXV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 28-30
- Marinelli, A., March, G., Rago, A.M. (1995). El carbón del maní *Thecaphora frezii* sobre *Arachis hypogaea* L. En 7° Congreso de Micología y 17° Jornadas Argentinas de Micología. Rosario, Santa Fe, Argentina. p. 134
- Marinelli, A., March, G.J., Oddino, C. (2008). Aspectos biológicos y epidemiológicos del carbón del maní (*Arachis hypogaea* L.) causado por *Thecaphora frezii* Carranza & Lindquist. *Agriscientia*, 25(1), 1-6.
- Marraro Acuña, F., Wiemer, A., Cosa, M. (2012). Carbón del maní bajo la lupa, anatomía de la infección. XXVII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, , Argentina
- Moral, J. (2020). *Conectando el ciclo de patogénesis y la epidemiología de las plantas*. Recuperado de: <https://www.studocu.com/es/document/universidad-de-cordoba-espana/patologia-vegetal/conectando-el-ciclo-de-patogenesis-y-la-epidemiologia-de-las-plantas/14946191>
- Nicolino, J.M., Kearney, M.I., Bongiovanni, M. D., Zuza, M., Alcalde, M., Peralta, V., & Rago, A.M. (2016). Efecto de enmiendas cálcicas sobre el carbón del maní. XXXI Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina.
- Oddino, C., Marinelli, A., March, G., Zuza, M., & García, J. (2007). Evaluación regional de enfermedades de maní. Campaña 2006/07. XXII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina.
- Oddino, C.M., Soave, J.A., Soave, S.J., Moresi, A., Bianco, C., Buteler, M., Faustinelli, P., & Torre, D. (2013). Avances genéticos en la tolerancia a carbón del maní causado por *Thecaphora frezii*. XXVIII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 31–32
- Paredes, J.A. (2017). Importancia regional del carbón del maní (*Thecaphora frezii*) y efecto de ingredientes activos de fungicidas sobre la intensidad de la enfermedad. Tesis de maestría no publicada, Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Argentina
- Paredes, J.A., Cazón, L.I., Bisonard, E.M., Rago, A.M. (2015a). Triazoles y estrobilurinas para el control de *Thecaphora frezii*. XXX Jornada Nacional de Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 70–72
- Paredes, J.A., Cazón, L.I., Bisonard, M., Edwards Molina, J.P., & Rago, A.M. (2015b). Uso de fungicidas para el control de *Thecaphora frezii* en ensayos a campo. XV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. p. 235
- Paredes, J.A., Cazón, L.I., Osella, A., Peralta, V., Alcalde, M., Kearney, M.I., Zuza, M.S., Rago, A.M., Oddino, C. (2016) Relevamiento regional del carbón del maní y estimación de pérdidas producidas por la enfermedad. XXXI Jornada Nacional de Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina pp. 53–54

- Paredes, J. A., Cazón, L. I., Bima, M., Kearney, M. I., Nicolino, J. M., y Rago, A. M. (2017). Protocolo de toma de muestras y evaluación para un correcto relevamiento del carbón del maní. En XXIII Jornada Nacional de Maní. General Cabrera, Argentina, pp 59–61
- Paredes, J. A., Cazon, L. I., Oddino, C., Monguillot, J. H., Rago, A. M., y Molina, J. E. (2021a). Efficacy of fungicides against peanut smut in Argentina. *Crop Protection*, 140, 105403.
- Paredes, J. A., Edwards Molina, J. P., Cazón, L. I., Asinari, F., Monguillot, J. H., Morichetti, S. A. et.al. (2021b). Relationship between incidence and severity of peanut smut and its regional distribution in the main growing region of Argentina. *Tropical Plant Pathology*, 1-12.
- Paredes, J.A., Asinari, F., Monguillot, J.H., Edwards, J.P., Oddino, C., y Rago, A.M. (2019). Incidencia del carbón del maní en función del inóculo de *Thecaphora frezii* en el suelo. En XXXIV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- Rago, A.M., Cazón, L.I., Conforto E. C., Paredes, J.A., Bisonard, E.M., Oddino, C., March, G. (2014) Manejo del carbón del maní (*Thecaphora frezii*) principal desafío sanitario del cultivo en Argentina. En: Libro de resúmen. 3° Congreso Argentino de Fitopatología. p 105
- Rago, A. M., Cazón, L. I., Paredes, J. A., Molina, J. P. E., Conforto, E. C., Bisonard, E. M., y Oddino, C. (2017). Peanut smut: from an emerging disease to an actual threat to Argentine peanut production. *Plant Disease*, 101(3), 400-408.
- Rekah, Y., Shtienberg, D., y Katan, J. (1999). Spatial distribution and temporal development of *Fusarium* crown and root rot of tomato and pathogen dissemination in field soil. *Phytopathology*, 89(9), 831-839.
- Rowe, R.C., Farley, J.D., Coplin, D.L. (1977). Airborne Spore Dispersal and Recolonization of Steamed Soil by *Fusarium oxysporum* in Tomato Greenhouses. *Phytopathology* 77:1513
- Singh, U., & Singh, B. (1992). Tropical grain legumes as important human foods. *Economic Botany*, 46(3), 310-321.
- SISA (2021) *Maní. 2020.2021*. Recuperado de: [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sisa\\_if\\_maní\\_20\\_21.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sisa_if_maní_20_21.pdf)
- Smith, B. W. (1950). *Arachis hypogaea*. Aerial flower and subterranean fruit. *American Journal of Botany*, 802-815.
- Valetti, L., Paredes, J. A., Guzzo, M.C., Posada, G.A., Monguillot, J.H., Perez, A., Sardo, F, Rago, A. (2021). Efecto de la aplicación de inóculos individuales y mixtos de cepas de *Trichoderma* sp. con potencial promotor de crecimiento y biocontrol sobre *Thecaphora frezii*. En: XXXVI Jornada Nacional del Maní. Córdoba, Argentina.
- Valetti, L., Paredes, J. A., Monguillot, J. H., Cazón, L.I., Rago, A.M. (2018). Evaluación del efecto de un formulado de *Bacillus* sp. sobre la intensidad de carbón del maní. XXXIII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina.
- Wann, D. Q., Falco, A., Cavigliasso, M., & Cassano, C. (2020). Phenotypic variation of peanut smut (*Thecaphora frezii*) incidence and severity in the US peanut mini-core collection. *Peanut Science*, 47(2), 46-53.
- Workman, D. (2022). *Top Peanuts Exports & Imports by Country Plus Average Prices*. Recuperado de: <https://www.worldstopexports.com/top-peanuts-exports-imports-by-country-plus-average-prices>

### **SOBREVIVENCIA DE LAS TELIOSPORAS DE**

### ***Thecaphora frezii***

*“Evaluar la sobrevivencia de las teliosporas de Thecaphora frezii según la capacidad de infección en el tiempo en condiciones de campo e invernadero.”*

### **INTRODUCCIÓN**

La sobrevivencia de estructuras de resistencia, permite a los patógenos a permanecer viables por largos períodos de tiempo, en búsqueda de condiciones que sean propicias para lograr infecciones, reproducirse y perdurar (Agrios, 2005). En enfermedades producidas por hongos, como por ejemplo en el carbón de la caña de azúcar causado por *Ustilago scitaminea* Syd, sus teliosporas pueden sobrevivir por varios meses en el suelo o ambientes secos, pero solo 2-3 semanas en condiciones de humedad (Comstock 1983). En carbón de la panoja del maíz (*Sporisorium reilianum*) las teliosporas pueden permanecer viables por 2 o 3 años (Matyac y Kommedahl 1986), y en carbón parcial del trigo, las teliosporas de *Tilletia indica* sobreviven en suelos contaminados de dos a cuatro años, y aunque disminuyen la viabilidad considerablemente a través del tiempo, algunas teliosporas pueden quedar viables después de cuatro años (Bonde et al., 2004). *Thecaphora frezii*, el agente causal del carbón del maní, es un patógeno habitante de suelo que presenta sus teliosporas como estructuras de resistencia, y según estudios preliminares, no disminuye su capacidad de infección por cuatro años (Cazón et al., 2016; Rago et al., 2017).

El área productiva manisera en la provincia de Córdoba fue evolucionando a través de los años. La presencia de enfermedades producidas por hongos de suelo fueron desplazando la zona de producción desde los departamentos Santa María y Río Segundo en la década del 90', hacia nuevas regiones al sur de la provincia, principalmente a los departamentos Río Cuarto y General Roca en búsqueda de suelos libres de patógenos

(Figura 2.1) (March y Marinelli 2005). Esto fue debido principalmente a epidemias causadas por *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. minor* y *Sclerotium rolfsii*. Estos patógenos condicionaron la producción manisera, convirtiéndose en un factor limitante para el cultivo principalmente en la zona Centro-Norte de Córdoba (March y Marinelli 2005; Oddino et al., 2007).



**Figura 2.1.** Mapa del área manisera de la provincia de Córdoba. Las regiones 1, 2 y 3, corresponden a áreas históricas maniseras como zonas norte, centro y centro-sur de producción respectivamente. La región 4 corresponde al área de expansión de la producción de maní en la década del 2000. Fuente: Adaptado de March y Marinelli, 2005.

Esta situación se dio en simultáneo con las primeras detecciones de carbón del maní en lotes productivos. El carbón fue reportado por primera vez en el año 1995 en lotes de maní en las localidades de Pampayasta, Villa Ascasubi y Ticino (región centro-norte del área manisera) en la provincia de Córdoba (Marinelli et al., 1995). Desde su primer reporte, la incidencia e intensidad del carbón del maní fue aumentando gradualmente, para finalmente encontrarse en todos los lotes de producción de maní para la campaña 2011-12 (Cazzola et

al., 2012). Ante la baja prevalencia observada, sumado a la ausencia de síntomas en la parte aérea, ninguna medida de manejo fue implementada en los inicios de la epidemia (Rago et al., 2017). De esta manera, regiones históricamente maniseras fueron incrementando las teliosporas de *T. frezii* en sus suelos, inicialmente en el centro de la provincia, hasta finalmente acompañar el mismo desplazamiento que estaba sufriendo el cultivo hacia el sur de la región.

La expansión del carbón en el área manisera, junto a los incrementos en la prevalencia e intensidad, se explican por las características poliéticas de la enfermedad que llevan a un incremento constante del inóculo, posibilitado por el largo período de sobrevivencia de las teliosporas de *T. frezii* en los suelos. Sin embargo, el tiempo en el que las teliosporas permanecen viables aún no está bien definido. Por este motivo se planteó como objetivo evaluar la sobrevivencia de las teliosporas de *T. frezii* según la capacidad de infección en el tiempo en condiciones de campo e invernadero.

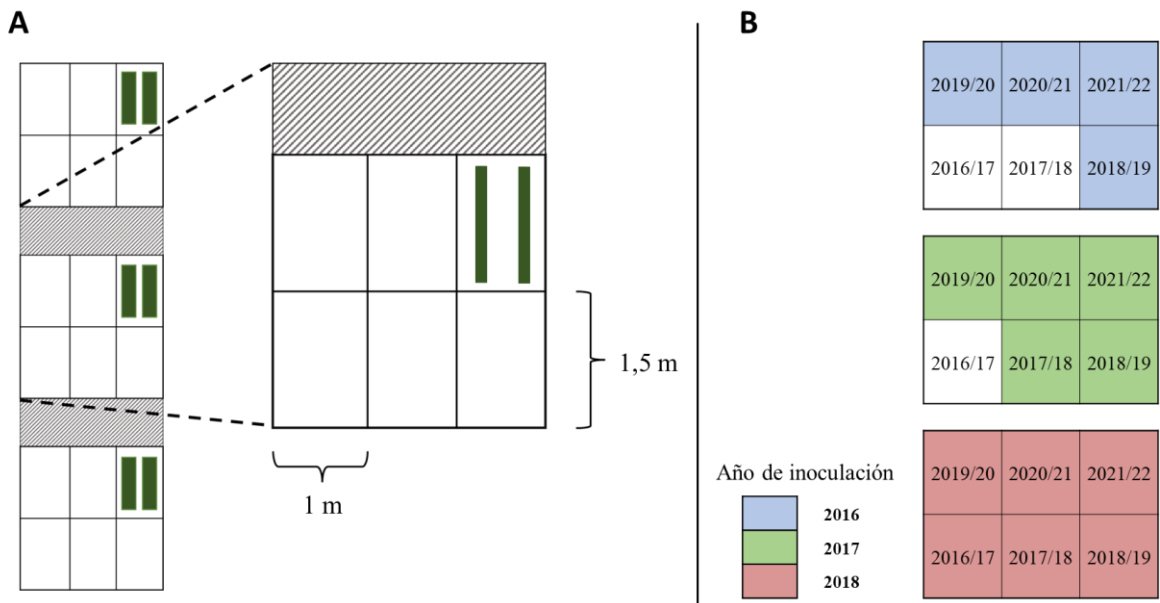
## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Experimento a campo en microparcels**

En las instalaciones del IPA VE-CIAP-INTA, en Córdoba Capital, se realizó un experimento de larga duración en microparcels. Se buscó evitar el aporte externo y continuo de teliosporas provenientes de campos cercanos, al estar el experimento alejado de la zona núcleo manisera.

Una única contaminación inicial de suelo se realizó en un área delimitada de 9 m<sup>2</sup> (3 m × 3 m), donde teliosporas de *T. frezii* colectadas de vainas carbonosas (de ese mismo año) fueron adicionadas al suelo, agregando 220 g de teliosporas diluidas en 10 litros de agua, asperjando la totalidad de la solución en la parcelas. Se realizó una incorporación superficial con rastrillo y se completó con un segundo regado de la parcelas (10 litros de agua), dejando el suelo sin ninguna perturbación posterior. Se logró una concentración aproximada de 1.200 teliosporas g<sup>-1</sup> de suelo, confirmada mediante el conteo de esporas por observación a microscopio. Durante la temporada de crecimiento de maní, se mantuvo el experimento libre de insectos y con remoción manual de malezas.

Tres parcelas fueron contaminadas en tres años diferentes: 2016, 2017 y 2018 (generando tres repeticiones). Cada parcela se subdividió en seis cuadrantes (sombreado un cuadrante por año), para evaluar seis años de estudio del experimento (**Figura 2.2**). De esta manera se registraron 6, 5 y 4 años de sobrevivencia de teliosporas para cada uno de los años de inoculación respectivamente. El cultivar utilizado fue Granoleico (altamente susceptible a carbón), utilizando semilla con poder germinativo > 80 %, previamente lavada y con curasemilla (Vitavax® Flo SC). En cada parcela se sembraron manualmente dos surcos, 8-10 semillas m<sup>-1</sup> en época normal del cultivo (octubre-noviembre).



**Figura 2.2. A:** Esquema de años de evaluación según el momento de inoculación de la parcela con teliosporas de *T. frezii* para evaluar la capacidad de infección a través del tiempo. Los cuadros blancos representan cuadrantes de evaluación por año, las líneas verdes son líneas de plantas de maní sembradas, **B:** Los cuadrantes coloreados indican los años de inoculación y campañas evaluadas para los diferentes años de inoculación.

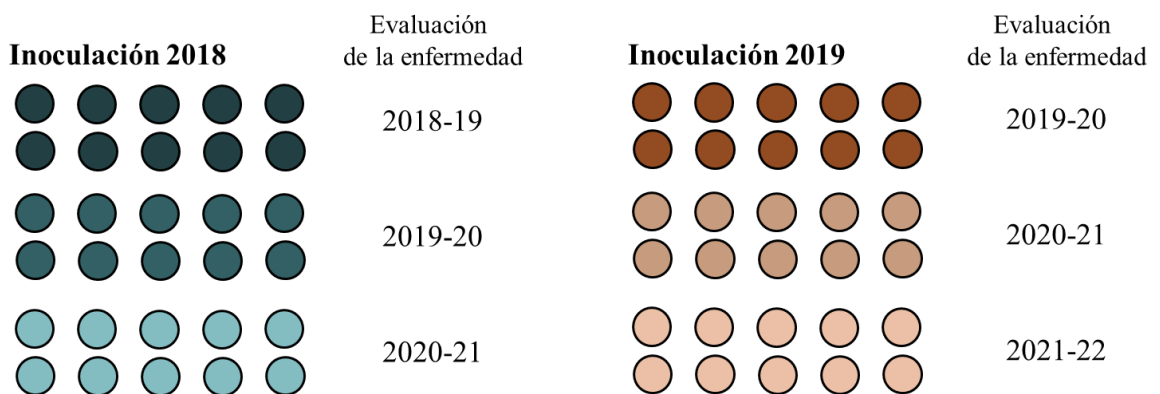
Todas las plantas fueron cuidadosamente cosechadas al estado fenológico R8 (Boote 1982), realizando la evaluación de la enfermedad a las plantas centrales de cada parcela y descartando las plantas de los extremos. Todas las vainas fueron evaluadas determinando la incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) y el índice de severidad del carbón (DSI) (Ver Capítulo 1). Plantas sembradas en parcelas sin inocular fueron usadas como testigos.

## Experimento en macetas

El ensayo se realizó en invernadero, en las instalaciones del IPAVE-CIAP-INTA. Cada unidad experimental fue una maceta (8 L), en la que se sembraron 4 semillas de maní cultivar Granoleico, con semilla previamente lavada y curada con curasemilla (Vitavax® Flo SC), para finalmente por raleo lograr una planta de maní por maceta. Las plantas se mantuvieron en ambiente controlado (temperatura de aproximadamente  $24 \pm 4$  °C), sin restricciones hídricas, libre de plagas y control de malezas en forma manual.

El sustrato estuvo compuesto por tierra de calidad sanitaria controlada, libre de teliosporas de *T. frezii*. A cada unidad experimental se la inoculó con una suspensión de teliosporas de *T. frezii* obtenidas del año anterior a la inoculación (almacenadas en temperatura ambiente  $\sim 25$  °C en laboratorio, libre de humedad), agregando 0,5 g de teliosporas en solución con 200 cm<sup>3</sup> de agua, para lograr una concentración aproximada de 10.000 teliosporas g<sup>-1</sup> de suelo, cantidad de inóculo capaz de ocasionar valores de incidencia de carbón superiores al 70 % (Paredes et al., 2019). En total fueron inoculadas 30 macetas en dos años diferentes (2018 y 2019, respectivamente, correspondientes a dos repeticiones del experimento). Un grupo de 10 macetas fue evaluado por año de inoculación, logrando tres años de longevidad de teliosporas (**Figura 2.3**).

La evaluación del carbón se realizó en todas las vainas maduras contenidas en cada maceta, determinando la incidencia, las vainas severamente afectadas (SDP) y el índice de severidad del carbón (DSI) (Ver Capítulo 1).



**Figura 2.3.** Esquema de experimento en macetas, indicando el número de macetas a evaluar y los años de inoculación de la enfermedad.

## **Análisis de los datos**

Tanto para los experimentos en microparcels, como para los experimentos en maceta, análisis de comparación de medias de las variables incidencia, SDP y DSI fueron realizados para cada uno de los años de longevidad de teliosporas, agrupados por año de inoculación según test de comparación de medias Tukey ( $P < 0,05$ ). También fueron realizadas comparaciones del DSI para las microparcels, tomando todos los datos de los 4 años (número máximo de años que comparten los tres momentos de inoculación) de longevidad de teliosporas para los tres años de inoculación.

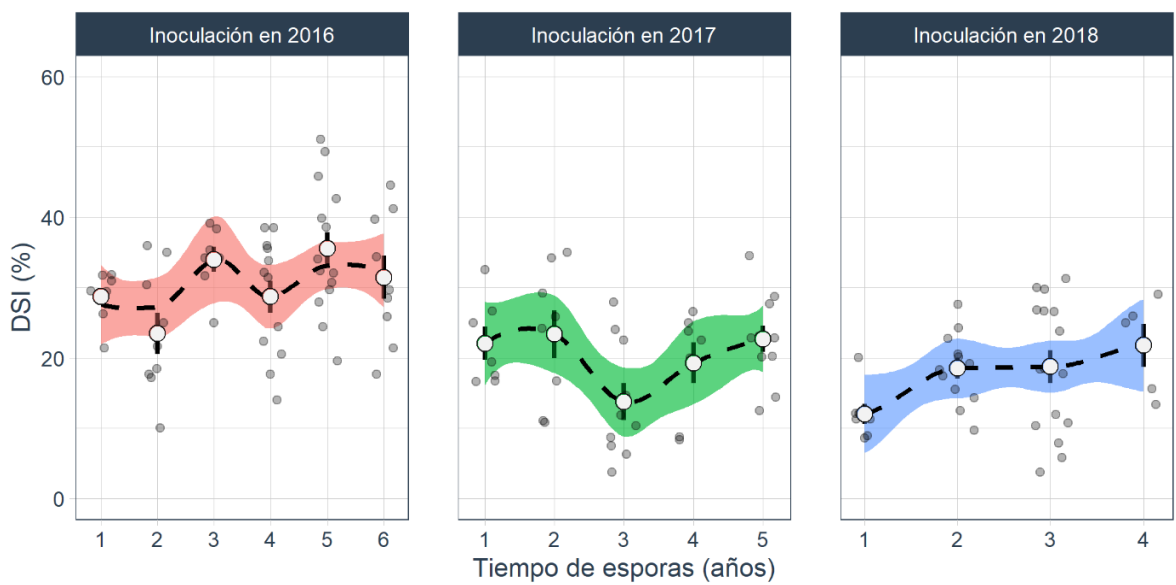
En las microparcels, la relación entre la intensidad de la enfermedad y los años de duración de las teliosporas en el suelo desde la inoculación se analizó mediante modelos de regresión lineal, para cada uno de los años de inoculación. Se trazaron las ecuaciones de regresión junto con las medias y las desviaciones estándar para cada parcela en cada año de muestreo. Todos los datos se analizaron en R versión 4.0.5 (Team R Development Core 2018).



## RESULTADOS

### Ensayo a campo en microparcelas

En todos los años y para todos los momentos de inoculación fue registrada la enfermedad (**Figura 2.4**). Analizando el índice de severidad de la enfermedad (DSI), los rangos de las medias entre años varían de 23,5 - 35,5% para la inoculación en 2016, de 13,7 - 23,4% para la inoculación en 2017, y de 12 - 21,8% para el 2018 respectivamente.



**Figura 2.4.** Distribución del índice de severidad del carbón del maní (DSI%) a través de los años de evaluación y duración de las teliosporas desde la inoculación, particionado según año de inoculación de teliosporas. El punto blanco representa la media con su desvío estándar y los puntos grises son observaciones. El área sombreada grafica el 95% de confianza alrededor de la línea punteada de tendencia.

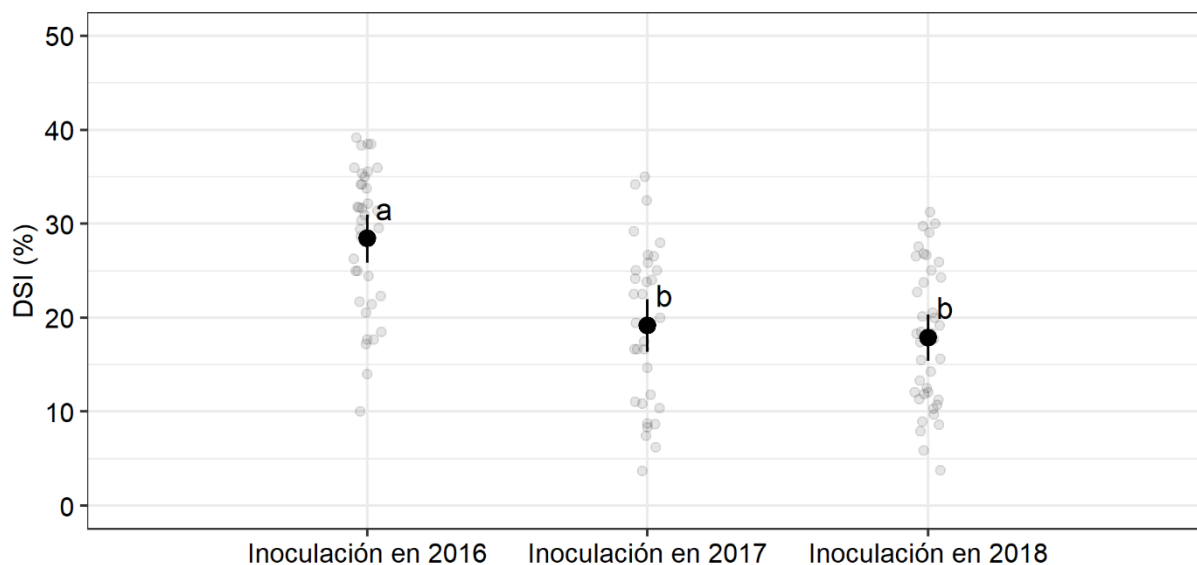
Se observan diferencias estadísticas significativas entre el tiempo de longevidad de las teliosporas para la inoculación en 2016, siendo el mayor registro a los 5 años (35,5 %) y el más bajo a los 2 años (23,5 %). Sin embargo, esta diferencia no indica una disminución de la intensidad de la enfermedad a través del tiempo, con la misma significancia estadística en el año 1 con respecto al año 6 en los niveles de carbón. Para las repeticiones en 2017 y 2018 no se observaron diferencias estadísticas entre el tiempo de teliosporas (**Tabla 2.1**).

**Tabla 2.1.** Evaluación de carbón del maní para las parcelas inoculadas en 2016, 2017 y 2018. Medidas resúmenes de la incidencia, las vainas severamente afectadas (SDP) y el índice de severidad (DSI) del carbón del maní, y su comparación estadística según los años de duración de las teliosporas desde la inoculación.

<b>Año de inoculación</b>	<b>Tiempo de teliospora (año)</b>	<b>n</b>	<b>Incidencia (%) <sup>a</sup></b>		<b>SDP (%) <sup>a</sup></b>		<b>DSI (%) <sup>a</sup></b>	
<b>2016</b>	1	8	32,8 ± 4,1	ab	31,3 ± 4,0	ab	28,7 ± 3,5	ab
	2	9	28,5 ± 10,2	b	25,2 ± 10,1	b	23,5 ± 8,8	b
	3	7	43,6 ± 8,1	a	34,4 ± 5	ab	34 ± 4,7	ab
	4	13	38,0 ± 9,50	ab	28 ± 8	ab	28,7 ± 8,2	ab
	5	15	42,3 ± 10,9	a	37 ± 8,5	a	35,5 ± 9	a
	6	9	39,4 ± 10,9	ab	29,6 ± 9,9	ab	31,4 ± 9,2	ab
<b>2017</b>	1	7	28,4 ± 9,9	a	23,7 ± 4,2	ab	22,1 ± 6,1	a
	2	8	27,7 ± 12	a	26,1 ± 10,9	a	23,4 ± 9,6	a
	3	10	18,8 ± 11,8	a	13 ± 8,1	b	13,7 ± 8,3	a
	4	7	26,8 ± 8,9	a	18,1 ± 10,3	ab	19,3 ± 7,6	a
	5	11	30,2 ± 7,2	a	21,3 ± 7	ab	22,7 ± 6,2	a
<b>2018</b>	1	7	13,8 ± 2,9	b	12,9 ± 3,6	a	12 ± 3,8	a
	2	12	25,3 ± 5,7	a	19,7 ± 6,1	a	18,5 ± 5,1	a
	3	16	23,4 ± 11,7	ab	19 ± 10,1	a	18,7 ± 9,3	a
	4	5	28,8 ± 9,1	a	21,2 ± 5,2	a	21,8 ± 6,9	a

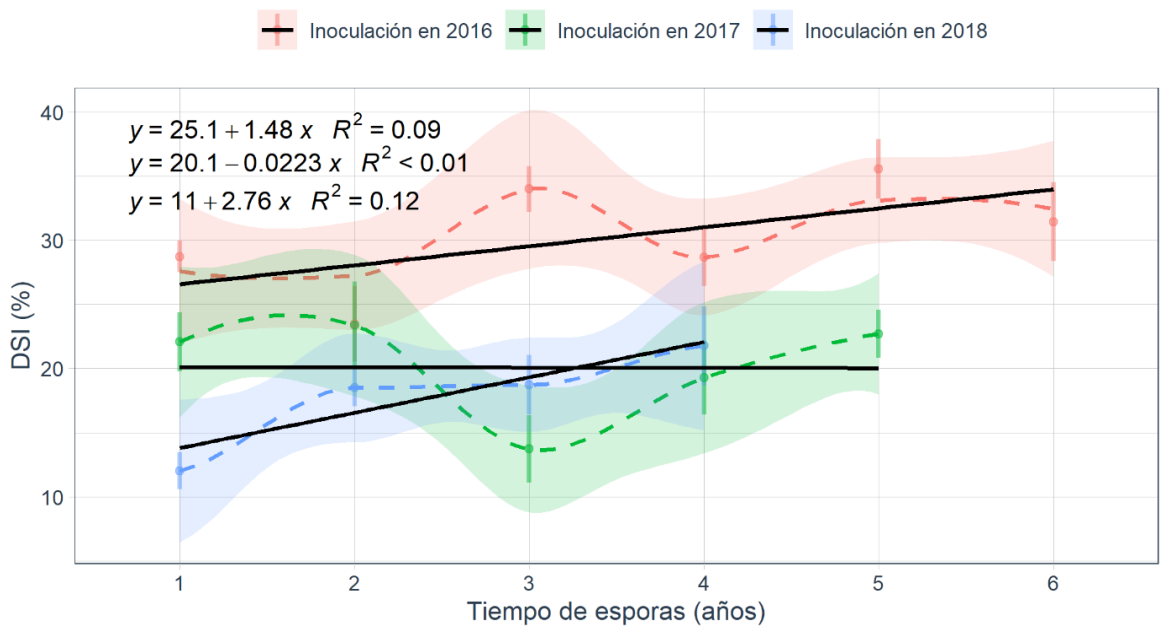
<sup>a</sup> Medias obtenidas de todas las observaciones para cada variable según el tiempo de teliospora y el año de inoculación ± el desvío estándar. Letras diferentes en las columnas y dentro el año de inoculación indican diferencias estadísticamente significativas según test de comparación de medias Tukey (P < 0,05).

Analizando 4 años de longevidad de teliosporas (comparativamente el mismo período de tiempo para cada repetición), la intensidad de la enfermedad fue diferente en cada año de inoculación. Los registros de carbón fueron más elevados cuando la inoculación fue en el año 2016 (28,4 DSI %), siendo estadísticamente diferente ( $P < 0,05$ ) a los años de inoculación en 2017 y 2018 (19,2 y 17,9 %, respectivamente) (**Figura 2.5**).



**Figura 2.5.** Diferencias entre el índice de severidad del carbón del maní (DSI), para las tres repeticiones bajo momentos de inoculación diferentes durante 4 años de longevidad de teliosporas. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según test de comparación de medias Tukey ( $P < 0,05$ ). Los puntos grises representan observaciones, el punto negro las media con su límite de confianza.

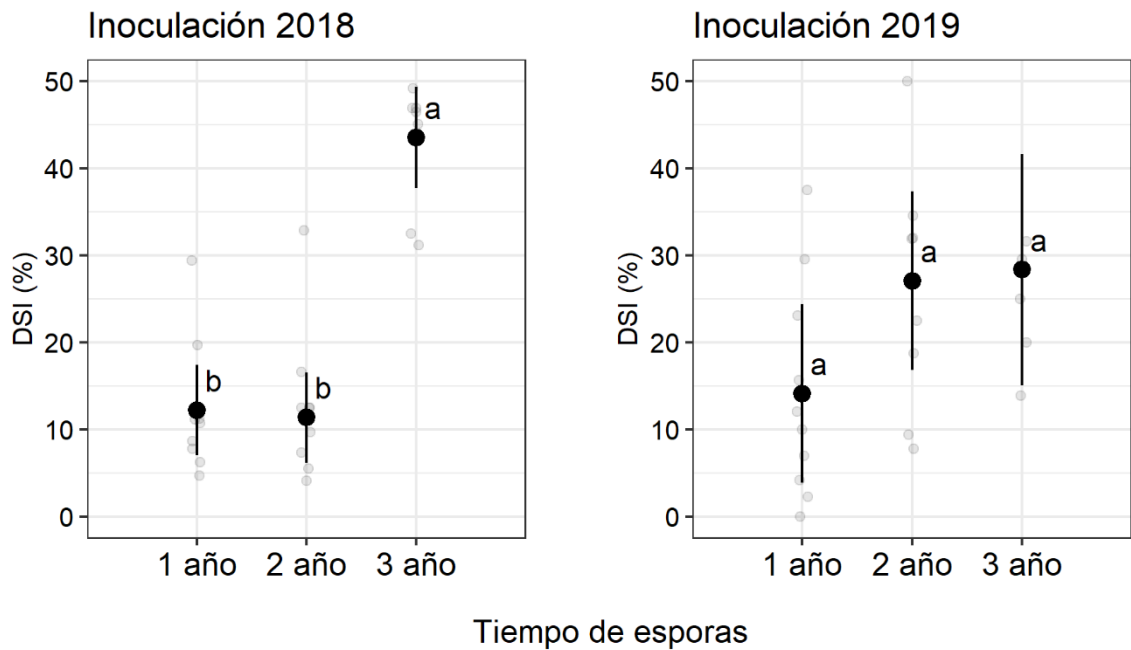
En un análisis global de los tres años de inoculación, las pendientes por regresión lineal de cada uno de estos momentos, indicaron que no hubo una tendencia marcada en una disminución de la enfermedad a lo largo del tiempo (**Figura 2.6**). Pendientes positivas fueron observadas para la inoculación en 2016 y 2018 (1,48 y 2,76 respectivamente), para la inoculación en 2017 la pendiente fue casi nula (-0,022)



**Figura 2.6.** Variación temporal del índice de severidad del carbón del maní (DSI). La línea negra continua representa la regresión lineal (ecuaciones incluidas según el año de inoculación) del DSI% en función de los años de duración de las teliosporas en el suelo desde la inoculación, para cada una de las repeticiones (años de inoculación), y el área sombreada grafica el 95% de confianza alrededor de la línea punteada de tendencia.

### Ensayo en condiciones semicontroladas en macetas

El carbón fue registrado en todas las macetas inoculadas con teliosporas de *T. frezii*. Se observó diferencia entre las dos repeticiones, donde en la inoculación en 2018 se observó un incremento estadísticamente significativo ( $P < 0,05$ ) en los parámetros de la enfermedad a través de los años, mientras que en la inoculación en 2019 no se observaron diferencias estadísticas significativas en los tres años de observación ( $P = 0,12$ ) (**Figura 2.7**).



**Figura 2.7.** Análisis de diferencias entre el índice de severidad del carbón del maní (DSI), para los tres años de longevidad de las teliosporas en los dos momentos de inoculación. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según test de comparación de medias Tukey ( $P < 0,05$ ). Los puntos grises representan observaciones, el punto negro las media con su desvío estándar.

Para ambas repeticiones, la intensidad de la enfermedad fue la menor en el primer año de inoculación, incrementando a lo largo de los años. En la inoculación en 2018, el mayor incremento fue observado del año 2 al año 3 (11,37 a 43,5 % DSI). En la repetición inoculada en 2019, el mayor incremento se observó del año 1 al año 2 (14,1 a 27,07 % DSI).

## DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio demostraron la capacidad de las teliosporas de *T. frezii* de sobrevivir en el suelo bajo condiciones de campo durante al menos 6 años. Estudios previos han calificado la sobrevivencia de las teliosporas de carbón por al menos 4 años en suelo (Cazón et al., 2016). Este es el primer reporte en evaluar la sobrevivencia de las teliosporas de *T. frezii* durante 6 años en microparcels experimentales, bajo condiciones ambientales, sin intervenciones como interseembra de cultivos o remoción de suelo.

Los diferentes propágulos de los patógenos difieren en su resistencia (a condiciones hostiles) y en su longevidad (tanto en la cantidad y en calidad de sus espora), los cuales afectan la sobrevivencia y la patogenicidad (Menziez 1963; Katan 2017). Igualmente, la calidad es generalmente difícil de determinar y con frecuencia no se tiene en cuenta (Katan 2017). Para el caso del carbón, se determinó la sobrevivencia en función de la capacidad de infección, expresadas como incidencia y severidad (SDP y DSI) en los años de estudio. Otros hongos que registran una sobrevivencia de más de 6 años (incluso 8 años) son *Colletotrichum coccodes*, *Phymatotrichum omnivorum*, *Sclerotinia trifoliorum*, y *Verticillium dahliae*, los cuales presentan diferentes estructuras de resistencia (Adams y Ayers 1979; Dillard y Cobb 1998).

El estudio de los componentes epidemiológicos que integran los patosistemas, intentan comprender el progreso epidémico de las enfermedades (Campbell y Madden 1990). En este sentido, el carbón del maní está favorecido por ciertas características tales como: la dispersión de las teliosporas de carbón; la alta producción de las mismas en las vainas carbonosas; y la acumulación constante de las teliosporas en los suelos (vinculada a la durabilidad de las teliosporas viables en los suelos). Estos factores ayudan a entender en cierta medida el avance de la enfermedad en los últimos años en la región manisera de la provincia de Córdoba (Rago et al., 2017; Cazón et al., 2018; Paredes et al., 2021). La capacidad de las teliosporas de *T. frezii* de permanecer viables en los suelos durante varios años, fue fundamental para lograr instalarse y luego expandirse en el área manisera (Cazón et al., 2016, 2018; Rago et al., 2017). El carbón del maní, como enfermedad poliética de acumulación constante de inóculo a través de los años, responde al incremento de la intensidad de la enfermedad observada en los diferentes relevamientos a través de los años (Paredes 2017; Asinari et al., 2019; Paredes et al., 2021).

Diversos estudios evalúan la sobrevivencia como la capacidad de germinación de las estructuras de resistencia en ciertos períodos de tiempo y bajo ciertas circunstancias (Menzies 1963; Dillard y Cobb 1998). Ejemplos típicos son las enfermedades causadas por patógenos que generan esclerocios (*S. cepivorum*, *S. sclerotiorum*), donde la sobrevivencia se evalúa según el porcentaje de esclerocios que logran germinar. Para el caso de *T. frezii*, este tipo de estudios y valoraciones aún no ha podido llevarse a cabo, al no contarse aún con un método estandarizado para lograr la germinación de las teliosporas (Astiz Gassó y Marinelli 2013; Rago et al., 2017). Esto se debe principalmente a que *T. frezii* es un parásito biotrófico, es decir que se alimenta de células vivas del hospedador, por lo cuál es dificultoso lograr una metodología que permita su germinación en cultivos *in vitro*.

La longevidad de las estructuras de resistencia de ciertos patógenos, varía ampliamente de acuerdo a diferentes autores. Diferencias en la sobrevivencia fue observada según la posición de las estructuras de resistencia en el suelo. Dillard y Cobb (1998) indican que los esclerocios de *C. coccodes* mantienen más de un 50 % de germinación a cualquier profundidad del suelo (0-20cm) durante 4 años, y mantiene los mismos porcentajes de germinación si son enterrados a los 10 y 20 cm por 4 años más, pero disminuyen su germinación mientras más cerca de la superficie se encuentran. Caso contrario es el de *S. sclerotiorum*, donde sus esclerocios pueden sobrevivir de 4 a 5 años (Adams y Ayers 1979), pero disminuyen sensiblemente su germinación si se entierran a más de 4 cm de profundidad. (Wu y Subbarao 2008). En este estudio, las teliosporas de *T. frezii* se adicionaron al suelo por riego y con una incorporación superficial, por lo que las teliosporas no estuvieron bajo una deposición profunda. De esta manera las teliosporas de *T. frezii* estuvieron bajo las condiciones climáticas, de radiación UV, y micro y macrofauna superficiales, sin disminuir la capacidad de infección en los 6 años del estudio a campo. Sería interesante lograr diferentes deposiciones (o profundidades) de teliosporas, y evaluar diferencias temporales en la infección, así como también diferentes características edáficas (tipos de suelo, regímenes climáticos, etc.).

Cada una de las repeticiones de estos ensayos correspondieron a condiciones particulares de suelo y ambiente que podrían tener influencia en los resultados obtenidos. Adams y Ayers (1979) indicaron que la temperatura del suelo, el pH, y la humedad tuvieron bajos efectos directos en la sobrevivencia de estructuras de resistencia. Sin embargo, los autores aseguran que componentes biológicos del suelo fueron los factores de mayor impacto

que determinaron la sobrevivencia de los esclerocios en el suelo. De esta manera, mayores contenidos de materia orgánica (MO) podrían condicionar la respuesta de la enfermedad. La microflora presente en suelos con mayores contenidos de MO actúa como base de suelos supresivos, lo que podría disminuir progresivamente la carga de inóculo en los suelos o condicionar la expresión de la enfermedad (Chellemi et al., 2016). En los experimentos en macetas, las bajas incidencias observadas (~ 30 %), aún con alta carga de inóculo en suelo (> 10.000 teliosporas g<sup>-1</sup> suelo), podrían deberse al contenido de MO del sustrato utilizado (~ 30 – 40 %). Los altos porcentajes de MO podrían haber condicionado las infecciones de carbón en los primeros, mientras que el incremento de la incidencia en el tercer año (en inoculación 2018) podría deberse a la descomposición de la MO del suelo y disminución de microorganismos supresivos. En resultados preliminares, Serri et al., (2018) observaron una correlación significativa para la incidencia e intensidad del carbón del maní respecto del carbono orgánico. A su vez, ellos indican que las propiedades biológicas y químicas también se asociaron al contenido de limo y arcilla del suelo (Serri et al., 2018).

Por otro lado, los resultados de este trabajo sugieren la necesidad de evaluar el comportamiento que presenten agregados de diferentes agentes biocontroladores (por ejemplo, *Trichoderma* sp.) sobre las teliosporas. Los organismos biológicos podrían condicionar la sobrevivencia de las esporas en los suelos, disminuyendo la carga de inóculo y las infecciones a través del tiempo (Ganuzza et al., 2018; Valetti et al., 2018, 2021). En estudios hechos por Rivera-Méndez et al., (2016) se logró la disminución de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* por medio de la utilización de *Trichoderma asperellum*.

Una de las estrategias de control para la antracnosis del tomate producida por *C. coccodes* fue lograr rotaciones de cultivo de 3-4 años o más, excluyendo cultivos de la familia de las Solanáceas (Dillard y Cobb 1998). Sin embargo ocasionalmente se han observado niveles inaceptables de antracnosis después del período recomendado de rotación de cultivos, lo que ha provocado que algunos productores cuestionen la utilidad de la rotación de cultivos como estrategia para el control de la enfermedad (Dillard y Cobb 1998). Eso podría explicarse debido a la alta sobrevivencia de las esporas de *C. coccodes*, siendo la misma situación observada en el carbón del maní, donde largas rotaciones no logran disminuir la enfermedad (Rago et al., 2017). El sistema productivo manisero argentino, en condiciones óptimas, busca rotaciones de al menos cuatro años entre cultivos de maní (Bongiovanni et al., 2017). Sin embargo, estas largas rotaciones entre cultivo maní – maní



no han frenado el avance continuo de la enfermedad (Asinari et al., 2019). Los resultados expuestos en este trabajo podrían explicar que rotaciones de cuatro años no son suficientes para disminuir la infección del carbón, ya que aún luego de 6 años, las esporas de *T. frezii* mantienen su capacidad de infección.

La sobrevivencia de patógenos puede ser activa, cuando coloniza materia orgánica en el suelo, o cuando coloniza plantas que no son hospedantes principales (actuando como plantas portadoras) sin causar síntomas visibles o daños (Katan 1971; Malcolm et al., 2013). Esto no es observado en *T. frezii*, ya que el único hospedante al que infecta es el maní (*A. hipogaea*) sin que haya sido registrado otro hospedante alternativo hasta el momento (Marinelli et al., 2008; Rago et al., 2017).

Basado en las regresiones lineales observadas en este trabajo, la intensidad de la enfermedad no se vió afectada según la longevidad de las teliosporas en el suelo. Esto indica la potencialidad que tienen las teliosporas de *T. frezii* para mantener su capacidad infecciosa en el tiempo, característica que explica el incremento constante de la incidencia en los lotes productivos de maní. Tener en consideración el largo período de sobrevivencia de las esporas es fundamental a la hora de generar estrategias en el manejo de la enfermedad.

## CONCLUSIONES

- Las teliosporas de *T. frezii* no disminuyen su capacidad de infección hasta al menos seis años de longevidad en el suelo.

## BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO

- Adams, P. B., & Ayers, W. A. (1979). Ecology of *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, 69(8), 896-899.
- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition. Elsevier Academic Press, London, UK. 922 p.
- Asinari, F., Paredes, J.A., Monguillot, J.H., Rago, A.M. (2019). Últimos años de registros del carbón del maní, ¿hacia dónde vamos? En XXXIV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- Astiz Gassó, M., Marinelli, A.D. (2013). Biología de la germinación de *Thecaphora frezii* *in vitro*. En XXVIII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 23-24
- Bonde, M. R., Nester, S. E., Olsen, M. W., & Berner, D. K. (2004). Survival of teliospores of *Tilletia indica* in Arizona field soils. *Plant disease*, 88(8), 804-810.
- Bongiovanni, R.G., Troilo, L., Pedelini, R. (2017). Buenas prácticas agrícolas para el cultivo de maní. En Fernandez E, Giayetto O (Eds.) *El cultivo de maní en Córdoba*, 2da edn. (411-433). Río Cuarto, Argentina: Editorial de la Universidad
- Boote, K. J. (1982). Growth stages of peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Peanut science*, 9(1), 35-40.
- Campbell C., & Madden, L. (1990). *Introduction to plant disease epidemiology*. Wiley, New York, USA.
- Cazón L.I., Paredes, J.A., Bisonard, M., Rago, A.M. (2016). Capacidad de infección de *Thecaphora frezii* en el tiempo. XXXI Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. p. 52
- Cazón, L. I., Paredes, J. A., y Rago, A. M. (2018). The biology of *Thecaphora frezii* smut and its effects on argentine Peanut production. *Advances in Plant Pathology*. London: IntechOpen Ltd, 31-46.
- Cazzola, N., Gateu, M., March, G., Marinelli, A., García, J., Rago, A.M., y Oddino, C. (2012) Intensidad y pérdidas ocasionadas por el carbón del maní según regiones de producción. En: XXVII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 34-35
- Chellemi, D. O., Gamliel, A., Katan, J., & Subbarao, K. V. (2016). Development and deployment of systems-based approaches for the management of soilborne plant pathogens. *Phytopathology*, 106(3), 216-225.
- Comstock, J. C., Ferreira, S. A., & Tew, T. L. (1983). Hawaii's Approach to Control c. *Plant Disease*, 453.
- Dillard HR, Cobb AC (1998) Survival of *Colletotrichum coccodes* in infected tomato tissue and in soil. *Plant Dis* 82:235-238. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.2.235>
- Ganuzza, M., Pastor, N., Erazo, J., Andrés, J., Reynoso, M. M., Rovera, M., & Torres, A. M. (2018). Efficacy of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* ITEM 3636 against peanut smut, an emergent disease caused by *Thecaphora frezii*. *European Journal of Plant Pathology*, 151(1), 257-262.

- Katan, J. (1971). Symptomless carriers of the tomato Fusarium wilt pathogen. *Phytopathology*, 61(10), 1213-1217.
- Katan, J. (2017). Diseases caused by soilborne pathogens: biology, management and challenges. *Journal of Plant Pathology*, 305-315.
- Malcolm, G. M., Kuldau, G. A., Gugino, B. K., & Jimenez-Gasco, M. D. M. (2013). Hidden host plant associations of soilborne fungal pathogens: an ecological perspective. *Phytopathology*, 103(6), 538-544.
- March G.J., Marinelli, A.D. (2005). Enfermedades del maní en la Argentina. Córdoba, Argentina: Bliqvia Impresores.
- Marinelli, A., March, G., Rago, A.M. (1995). El carbón del maní *Thecaphora frezii* sobre *Arachis hypogaea* L. En 7° Congreso de Micología y 17° Jornadas Argentinas de Micología. Rosario, Santa Fe, Argentina. p. 134
- Marinelli, A., March, G.J., Oddino, C. (2008). Aspectos biológicos y epidemiológicos del carbón del maní (*Arachis hypogaea* L.) causado por *Thecaphora frezii* Carranza & Lindquist. *Agriscientia*, 25(1), 1-6.
- Matyac, C. A., & Kommedahl, T. (1986). Survival of teliospores of *Sphacelotheca reiliana* in soil. *Phytopathology*, 76(5), 487-490.
- Menzies, J. D. (1963). Survival of microbial plant pathogens in soil. *The Botanical Review*, 29(1), 79-122.
- Oddino, C., Marinelli, A., March, G., Zuza, M., & García, J. (2007). Evaluación regional de enfermedades de maní. Campaña 2006/07. En: XXII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina.
- Paredes, J.A. (2017). *Importancia regional del carbón del maní (Thecaphora frezii) y efecto de ingredientes activos de fungicidas sobre la intensidad de la enfermedad*. Tesis de maestría no publicada, Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Argentina
- Paredes, J.A., Asinari, F., Monguillot, J.H., Edwards, J.P., Oddino, C., y Rago, A.M. (2019). Incidencia del carbón del maní en función del inóculo de *Thecaphora frezii* en el suelo. En XXXIV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- Paredes, J. A., Edwards Molina, J. P., Cazón, L. I., Asinari, F., Monguillot, J. H., Morichetti, S. A. et.al. (2021). Relationship between incidence and severity of peanut smut and its regional distribution in the main growing region of Argentina. *Tropical Plant Pathology*, 1-12.
- Rago, A. M., Cazón, L. I., Paredes, J. A., Molina, J. P. E., Conforto, E. C., Bisonard, E. M., y Oddino, C. (2017). Peanut smut: from an emerging disease to an actual threat to Argentine peanut production. *Plant Disease*, 101(3), 400-408.
- Rivera-Méndez, W., Zúniga-Vega, C., & Brenes-Madriz, J. (2016). Control biológico del hongo *Sclerotium cepivorum* utilizando *Trichoderma asperellum* en el cultivo del ajo en Costa Rica. *Revista Tecnología en Marcha*, 29, 41-50.
- Serri, D.L., Paredes, J.A., Monguillot, J.H., Vargas Gil, S. (2018). Evaluación de la incidencia del carbón del maní y propiedades del suelo en respuesta a diferentes secuencias agrícolas. En: XVI Jornadas Fitosanitarias Argentinas

- Team R Development Core (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Valetti, L., Paredes, J. A., Guzzo, M.C., Posada, G.A., Monguillot, J.H., Perez, A., Sardo, F, Rago, A. (2021). Efecto de la aplicación de inóculos individuales y mixtos de cepas de *Trichoderma* sp. con potencial promotor de crecimiento y biocontrol sobre *Thecaphora frezii*. En: XXXVI Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina.
- Valetti, L., Paredes, J. A., Monguillot, J. H., Cazón, L.I., Rago, A.M. (2018). Evaluación del efecto de un formulado de *Bacillus* sp. sobre la intensidad de carbón del maní. En: XXXIII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina.
- Wu, B. M., & Subbarao, K. V. (2008). Effects of soil temperature, moisture, and burial depths on carpogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor*. *Phytopathology*, 98(10), 1144-1152.

### REPRODUCCIÓN DE *Thecaphora frezii*

#### 3.1 DISTRIBUCIÓN DE LOS GRADOS DE SEVERIDAD

*“Analizar la distribución de los grados de severidad en las infecciones de carbón”*

*Parte de los resultados de este capítulo fueron publicados*

*“Relationship between incidence and severity of peanut smut and its regional distribution in the main growing region of Argentina” - Tropical Plant Pathology*

*DOI: <https://doi.org/10.1007/s40858-021-00473-x>*

#### INTRODUCCIÓN

La mayoría de los cultivares de maní sembrados en el área manisera argentina presentan alta susceptibilidad al carbón (*Thecaphora frezii*), siendo ‘Granoleico’ el cultivar más susceptible y el que se encuentra sembrado en más del 50 % de la región manisera argentina. Los programas de mejoramiento han estado seleccionando germoplasma para evaluar la tolerancia y la resistencia de diferentes cultivares de maní (Bressano et al., 2019; De Blas et al., 2019; Wann et al., 2020; Bennett et al., 2021; Kearney et al., 2021). Recientemente fue lanzado al mercado el cultivar de maní ‘EC191-RC’ con altos niveles de resistencia al carbón, sin embargo, no hay una adopción generalizada y su utilización es muy baja. Esto es debido, entre otros factores, a condiciones agronómicas, principalmente de rendimiento, que no logran compensar el buen comportamiento frente a la enfermedad.

En los últimos años el carbón del maní ha estado causando pérdidas significativas en la producción manisera de Argentina (Paredes 2017; Rago et al., 2017). Especialmente en la provincia de Córdoba, donde todos los lotes productivos de maní presentan teliosporas de *T. frezii* en sus suelos en diferentes concentraciones de inóculo (cantidad de esporas por gramo

de suelo). Esto resulta en incidencias variables de la enfermedad, con registros que van desde menos del 1 % hasta más del 50 %. Bajo este criterio, los lotes comerciales de maní se pueden clasificar según el porcentaje de incidencia de carbón como: bajo (< 4 %), medio (4 a 20 %) o alto (> 20 %) (Paredes et al., 2021b).

Los relevamientos de carbón en las zonas productoras de maní de Córdoba han mostrado una disminución en la intensidad de la enfermedad de norte a sur (Paredes et al., 2016; Asinari et al., 2019). Este gradiente se debe principalmente al historial de cultivo de maní en la región y a la localización de las industrias (Paredes 2017; Rago et al., 2017; Cazón et al., 2018; Asinari et al., 2019). Las plantas procesadoras de maní están ubicadas principalmente en el centro-norte del área manisera y son una fuente importante de dispersión de esporas (Paredes et al 2021). Durante el descapado, las vainas carbonosas liberan grandes cantidades de teliosporas que son dispersadas por el viento, aumentando el inóculo del suelo en los campos cercanos. Por el contrario, los menores registros de carbón, aunque con un incremento preocupante, fueron registrados en el sur de la provincia de Córdoba donde se localizan nuevas áreas de producción y el historial del cultivo de maní es menor que en el norte (Paredes 2017; Rago et al., 2017; Cazón et al., 2018).

El incremento constante en la intensidad de la enfermedad a lo largo de los años se debe en gran medida al incremento del inóculo en los suelos, potenciado por la agresividad de la enfermedad y a la cantidad de teliosporas que generan las infecciones de carbón (Paredes et al., 2017c, 2021b).

A partir de que el carbón se empezó a registrar con mayor frecuencia, se comenzaron a desarrollar estudios biológicos y epidemiológicos. Se han establecido diferentes métricas para caracterizar la enfermedad. Como primer medida se estableció una escala diagramática para la evaluación de los síntomas de carbón, determinando así diferentes grados de severidad (Astiz Gasso et al., 2008; Marinelli et al., 2008, 2010). A partir de la identificación visual de la enfermedad, diferentes parámetros fitopatométricos pueden ser calculados (Del Ponte et al., 2017). En este sentido, la incidencia de la enfermedad se define como el porcentaje de vainas afectadas en una muestra. Teniendo en cuenta la severidad de la enfermedad, vainas severamente afectadas (SDP) se definen como las vainas carbonosas de severidad grado 3 y grado 4 (ver Capítulo 1), donde al menos uno o ambos granos se encuentran totalmente carbonosos (Paredes et al., 2021b). El índice de severidad de la

enfermedad (DSI) tiene en cuenta la frecuencia de los grados de severidad, y es la medida más común y que mejor explica la intensidad del carbón para experimentos de campo o relevamientos zonales (Rago et al., 2017).

La cuantificación del índice de severidad es más laboriosa que la incidencia, pero expresa mejor la intensidad de las enfermedades (Bock y Chiang 2019). Sin embargo, debido a la mayor subjetividad en las estimaciones y la necesidad de entrenamiento, la incidencia es mucho más usada que la severidad al ser un método mucho más simple, rápido y objetivo (Bock et al., 2010). Las relaciones entre el índice de severidad y las incidencias de la enfermedad podrían conducir a comprender el comportamiento en la expresión de la enfermedad.

En el maní, la infección del carbón ocurre cuando el clavo está penetrando el suelo donde estimula la germinación de las teliosporas, produciendo una infección local (Marinelli et al., 2008). Los síntomas del carbón son variables, la infección puede originar desde una pequeña mancha o pústula hasta la transformación completa de los granos en una masa carbonosa de teliosporas. En algunos casos se han observado vainas hipertróficas sin ningún signo interno del patógeno (Bennett et al., 2021). Las vainas severamente afectadas por carbón producen en su interior millones de teliosporas. Esta característica es de especial importancia en la cosecha, ya que durante la trilla las vainas pueden romperse, dispersando las teliosporas y contaminar los suelos. Sumado a esto, estas teliosporas sobreviven varios años en el suelo (al menos cuatro años) sin modificar su capacidad de infección (Cazón et al., 2016b; Rago et al., 2017).

En la actualidad, se desconoce cuáles son los factores que inciden para que se produzcan diferentes grados de severidad, sin embargo, la sintomatología del carbón es bien diferenciada. Evaluar la frecuencia de cada grado de severidad permitiría identificar patrones para explicar el comportamiento de la enfermedad y de esta manera podría conducir a comprender mejor la epidemiología de la enfermedad.

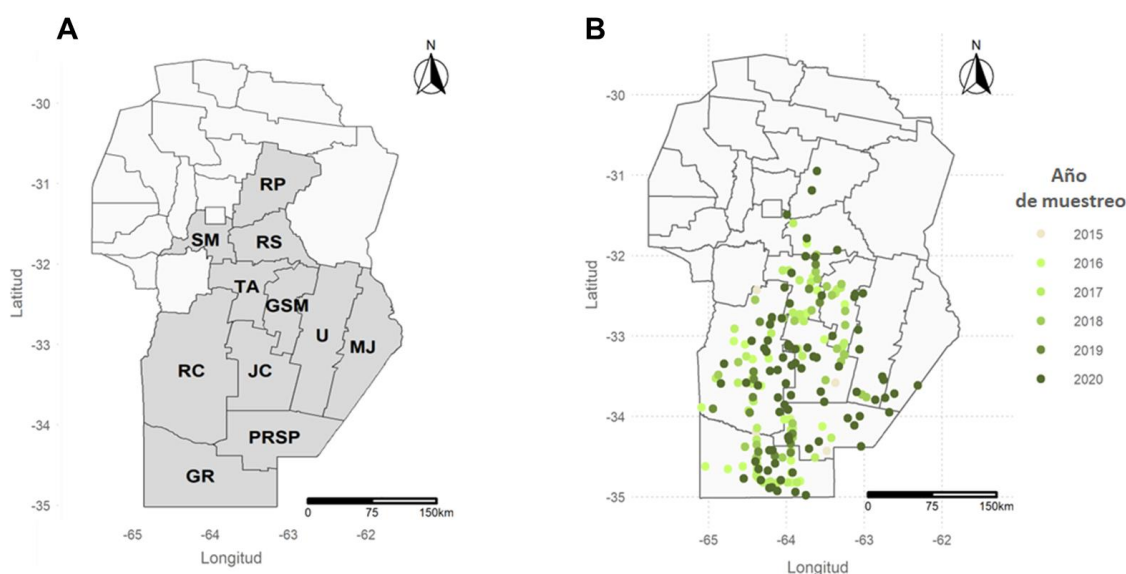
El objetivo del presente trabajo pretende analizar la distribución de los grados de severidad en las infecciones producidas por *T. frezii* en maní. En este sentido se buscó evaluar la distribución de los grados de severidad del carbón en las vainas y modelar la relación entre clases de incidencia (incidencia total o incidencia por grado de severidad) y el índice de severidad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Diferentes análisis fueron realizados con datos del estado sanitario del carbón, de relevamientos de lotes comerciales de maní de la provincia de Córdoba. La evaluación de la enfermedad generó un gran volumen de datos, cubriendo espacialidad y temporalidad.

### Sitios de muestreo y descripción del relevamiento

Los relevamientos se realizaron en la provincia de Córdoba, principal zona manisera de Argentina (**Figura 3.1**). Se seleccionaron campos comerciales de maní de 11 departamentos de la campaña 2014-2015 a la 2019-2020 (de aquí en adelante llamados 2015 a 2020, según el año de cosecha). Los campos se muestrearon al azar buscando representatividad en la extensión del área manisera. No se consideró en el muestreo la cercanía de las plantas de procesamiento de maní, así como ningún lote fue muestreado más de una vez. Todos los campos estudiados fueron lotes de producción, sin sistemas de riego y bajo las prácticas de manejo estándar de cada productor. El tamaño de cada lote fue variable en un rango entre 80 y 400 ha.



**Figura 3.1.** Área relevada en la provincia de Córdoba para el carbón del maní. **A:** Departamentos relevados (área gris) donde: RP: Río Primero; SM: Santa María; RS: Río Segundo; TA: Tercero Arriba; GSM: General San Martín; U: Unión; MJ: Marcos Juárez; JC: Juárez Celman; RC: Río Cuarto; PRSP: Presidente Roque Sáenz Peña; GR: General Roca. **B:** Ubicación de cada lote relevado según el año que se tomó la muestra.



En ninguno de los campos muestreados se aplicaron estrategias específicas de manejo del carbón del maní. En todos los casos hubo control normal para viruela (*Nothopassalora personata*) con fungicidas foliares, sin embargo, la dosis y el momento de aplicación de fungicidas para viruela no tienen efecto en el control del carbón (Paredes et al., 2021).

Todos los campos muestreados presentaron infecciones con carbón. La intensidad del carbón se determinó en el cultivo maduro, aproximadamente 140 días después de la siembra, en estado R8 (Boote, 1982; Rago et al., 2017). La evaluación de la enfermedad se realizó en la etapa previa a la cosecha (estación de muestreo) recolectando todas las plantas en 1 metro de surco. Las muestras se recolectaron en una transecta en el área central del campo, separadas al menos 50 m entre sí. El número de muestras tomadas varió de 4 a 8, dependiendo de la presión regional de la enfermedad de acuerdo a Paredes et al., (2017a). De esta manera, se tomaron 4 estaciones de muestreo para campos con alta presión de enfermedad (> 8 % de incidencia), mientras que fueron tomadas 8 muestras en campos con menor presión de inóculo de carbón (< 4 % de incidencia). Todas las vainas muestreadas en cada estación fueron evaluadas.

### **Evaluación de la enfermedad y frecuencia de la clase de gravedad**

La intensidad del carbón del maní se caracterizó por la incidencia de la enfermedad (DI), el índice de severidad (DSI), además las métricas: vainas levemente afectadas (LDP) y las vainas severamente dañadas (SDP). Las distribuciones de las clases de severidad de la enfermedad se calcularon como la incidencia de los grados de severidad (IGS), expresada como un porcentaje del número total de vainas infectadas, y la frecuencia relativa de los grados de severidad de la enfermedad ( $f$  IGS) (Ver capítulo 1)

## Análisis de los datos

La relación entre las incidencias (total y por cada clase de severidad) y DSI se analizó mediante modelos de regresión lineal. Se consideró que los lotes dentro de una misma ubicación y año no eran independientes, por lo que se agruparon en un mismo ambiente (i.d.). Luego, se ajustaron modelos de regresión lineal mixtos a los datos filtrados por dos condiciones: “departamentos” con al menos cuatro campos muestreados y un “rango de incidencia” de carbón de al menos 5%. Esta restricción permitió estimar una regresión a nivel de i.d. como un efecto aleatorio y la regresión de línea general como un efecto fijo. Con  $n = 20$  entornos independientes, el modelo mixto lineal para el entorno  $i$  se puede escribir como:

$$y_{ij} = (\beta_0 + u_{0i}) + (\beta_1 + u_{1i}) x_{ij} + e_{ij}$$
$$u_{0i} \sim N(0, \tau_{u0}^2); u_{1i} \sim N(0, \tau_{u1}^2); e_{ij} \sim N(0, v_e^2)$$

donde incidencia carbón  $y_{ij}$  (incidencia de un campo o para cada clase de incidencia),  $x_{ij}$  una métrica de referencia (DSI o incidencia de campo), y  $e_{ij}$  el residuo del modelo, para la  $j$ -ésima observación (lote).  $\beta_0$  y  $\beta_1$  son el intercepto y la pendiente promedio de la población, respectivamente, mientras que  $u_{0i}$  y  $u_{1i}$  son los efectos aleatorios específicos del entorno en el intercepto y la pendiente, respectivamente. Estas últimas se consideran variables aleatorias normalmente distribuidas con media 0 y varianzas  $\tau_{u0}^2$  y  $\tau_{u1}^2$ , respectivamente. El término de error,  $e_{ij}$ , también se considera que se distribuye de manera normal con media 0 y varianza residual  $v_e^2$ . La función "lme" del paquete "nlme" se usó para corregir problemas de heteroscedasticidad mediante el argumento `weights = varPower (forma = ~ incidencia)`. Se usaron pendientes de la línea de regresión para comparar la incidencia de la clase de severidad. Todos los datos se analizaron en R versión 3.5.1 (Team R Development Core 2018).

## RESULTADOS

### Relevamientos de carbón

Se relevaron 217 lotes productivos de maní en la provincia de Córdoba desde la campaña 2014-2015 a la campaña 2019-2020. Un total de 130 lotes (60 % del total relevado) fueron evaluados en los departamentos de Río Cuarto (24 %), General Roca (22,6 %) y Presidente Roque Sáenz Peña (13,4 %), áreas más productivas de la provincia. Además, el 40 % de los lotes fueron relevados en el año 2020, con un alto volumen de datos en para esa campaña (87 lotes).

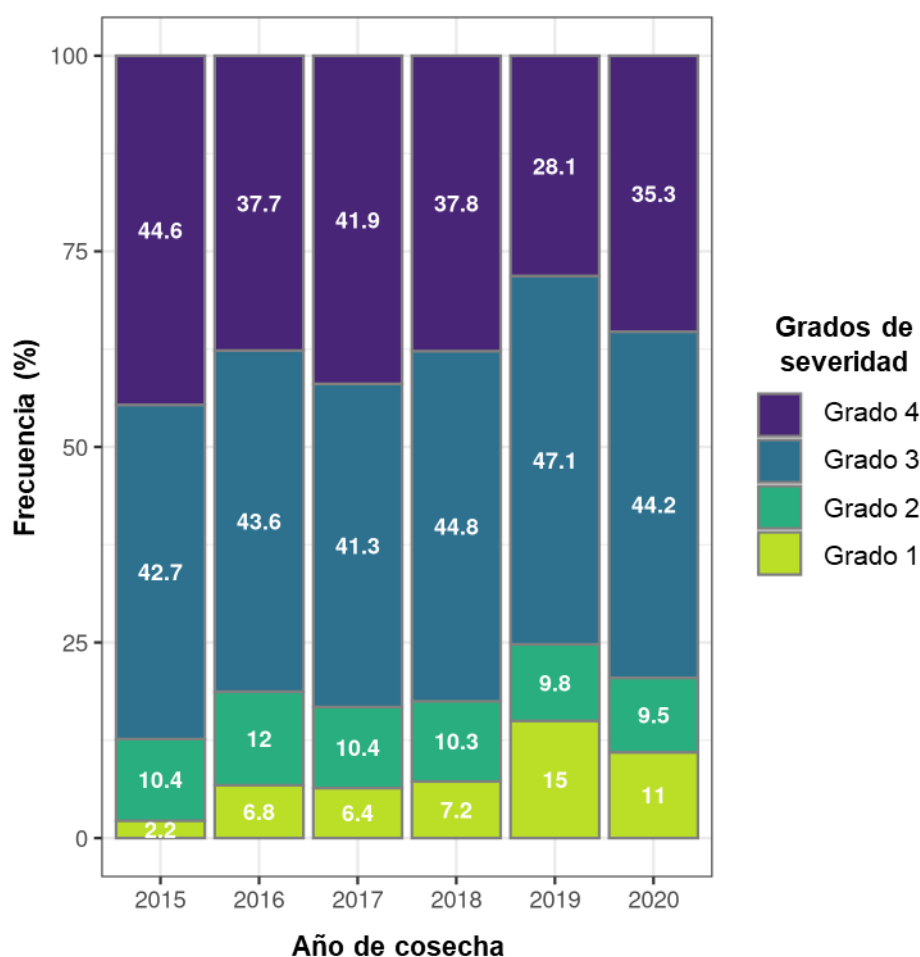
Las condiciones agronómicas de los cultivos variaron entre los años por factores edáficos o variaciones ambientales. La precipitación acumulada registrada durante la temporada de cultivo de maní (noviembre a abril) se presenta en la tabla complementaria (**Tabla S 3.1**). En 2018, se observó una sequía severa durante la temporada de crecimiento (300 mm menos de lo normal).

La **Tabla 3.1** resume los datos de incidencia y DSI para los lotes relevados a lo largo de los años. No fue registrado ningún lote con 0 % de carbón en la provincia de Córdoba. La media de la incidencia aumentó a lo largo de los años de 1,66 % en 2015 a 11,47 % en 2020. De los 217 lotes muestreados, 97 lotes (44,7 %) mostraron una intensidad baja (Inc. < 4 %; DSI < 3), 89 lotes (41 %) mostraron una intensidad media (Inc. > 4 a < 20 %; DSI > 2,3 a < 15,4), y 31 lotes (14,3 %) presentaron intensidad alta (Inc. >20 %; DSI > 15).

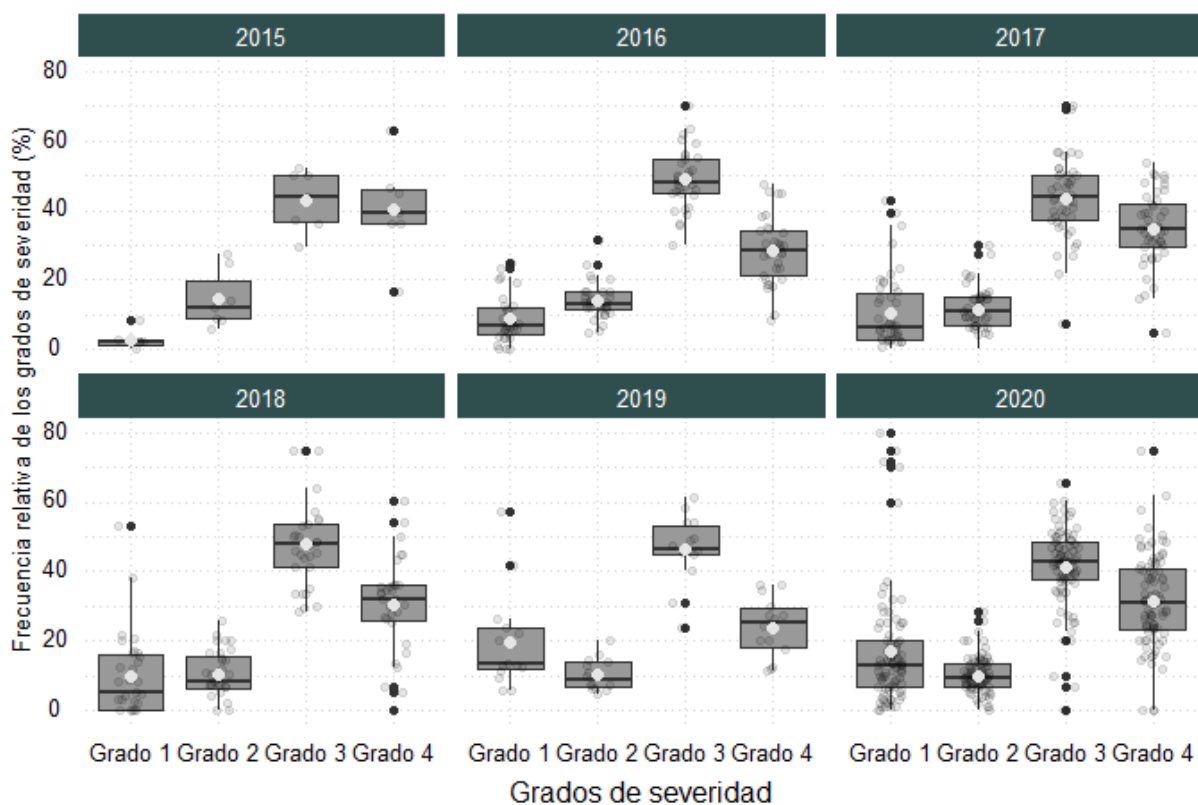
**Tabla 3.1.** Evaluación de carbón del maní para los lotes relevados desde 2015 a 2020 en diferentes departamentos productivos de la provincia de Córdoba. Medidas resúmenes de la incidencia (%) y el índice de severidad (DSI) del carbón del maní, y sus valores mínimos y máximos, según departamento y año de relevamiento.

Departamentos	2015				2016				2017				2018				2019				2020				Total de campos
	Incidencia		DSI		Incidencia		DSI		Incidencia		DSI		Incidencia		DSI		Incidencia		DSI		Incidencia		DSI		
	n	media	min	max	n	media	min	max	n	media	min	max	n	media	min	max	n	media	min	max	n	media	min	max	
General Roca	1	1,56	1,56	1,38	11	2,54	0,38	1,38	14	2,82	0,63	0,45	6	4,06	1,22	0,87	2	1,13	0,91	0,59	18	13,4	1,17	0,64	
			1,38	1,38			1,22	1,38			9,19	7,43			7,29	4,94			1,35	0,88		13,4	36,1	29,7	
General San Martín					2	5,82	2,83	2,07	4	7,14	2,09	1,54	5	17,4	2,96	2,22					5	3,84	1,88	1,44	
							8,81	6,79			13,4	10,5			41,2	35,8						6,22	2,78	4,87	
Juarez Celman	1	1,23	1,23	1,01	4	25,6	5,76	4,49	9	16,9	2	1,64	6	8,85	2,12	1,72					13	10,8	1,07	0,77	
			1,01	1,01			20,32	45,2			13,63	31,1			7,26	10,3						23,1	7,60	18,4	
Marcos Juarez																					2	0,16	0,04	0,01	
																						0,29	0,05	0,09	
Pte. Rque Saenz Peña	2	3,6	2,86	2,37	4	3,21	0,85	0,65	4	1,07	0,64	0,53	2	3,1	1,43	1,02	3	5,61	3,93	1,86	14	10,7	0,24	0,09	
			4,34	3,53			4,63	3,5			0,74	1,09			4,78	3,41			8,05	5,97		10,7	38,1	31,3	
Rio Cuarto	3	0,54	0,43	0,3	7	4,19	0,43	0,28	10	2,83	0,6	0,4	5	4,9	0,44	0,36	6	9,62	2,6	1,73	18	14,9	1,85	1,26	
			0,7	0,57			13,2	9,37			5,83	4,41			13,7	8,94			17,4	13,1		14,9	47,8	36,9	
Rio Primero																					2	13,7	7,89	5,38	
																						19,6	9,75	14,1	
Rio Segundo					1	20,7	20,7	16,9	1	1,39	1,39	0,79									3	6,4	4,36	3,29	
							16,93	16,9			1,39	0,79										9,96	4,88	7,69	
Santa Maria																					1	5,03	5,03	3,1	
																						5,03	3,10	3,1	
Tercero Arriba					3	15,6	1,92	1,49	4	28,5	14,7	12,2	5	13	2,6	2,01	3	15,8	13,3	10,4	5	22,7	14,3	11,5	
							39,3	31,8			46,1	37,6			28,8	23,1			20,2	15,5		47,1	17,83	34,7	
Unión													2	0,65	0,12	0,09					6	2,31	0,23	0,16	
															1,19	0,57						9,15	1,74	6,83	
<b>Total de campos</b>	<b>7</b>				<b>32</b>				<b>46</b>				<b>31</b>				<b>14</b>				<b>87</b>			<b>217</b>	

El 75 % de las vainas enfermas que fueron relevadas en todos los años de estudio se ubicaron tanto en el grado de severidad 3 como el 4, presentando en el año 2019 la menor frecuencia registrada (**Figura 3.2**). Esto último puede explicarse por la disminución del grado 4 de severidad de carbón en contraste con un aumento del grado 1 para el año 2019. De igual manera, esta diferencia puede deberse al bajo número de campos incluidos en los relevamientos de los años 2015 y 2019 en relación con los demás años ( $n = 7$  y  $n = 14$ , respectivamente; **Tabla 3.1**). Sin embargo, las frecuencias para la severidad grado 3 representaron del 41 al 47 % del total de las vainas enfermas, seguida de los de grado 4, con una frecuencia que osciló entre el 28 y el 44 % en todos los años estudiados. En contraste, los grados de severidad 1 y 2 presentaron las frecuencias más bajas durante los años relevados.



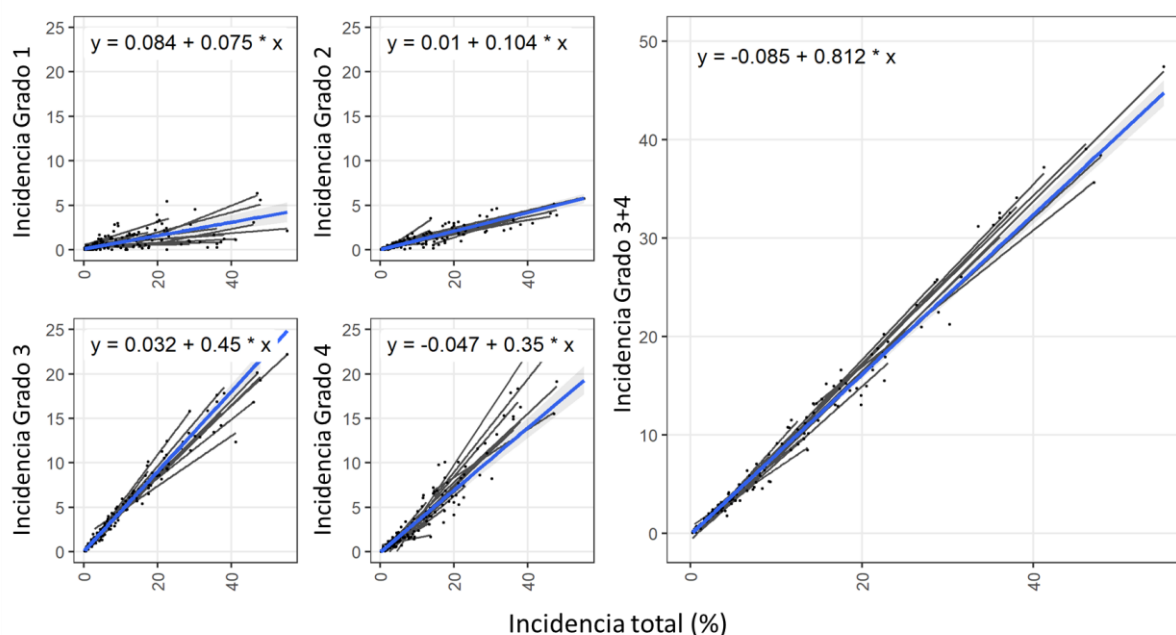
**Figura 3.2.** Diagrama que representa la media de la frecuencia relativa en los grados de severidad del carbón del maní según relevamientos entre 2015 y 2020.



**Figura 3.3.** Diagrama de caja (Boxplot) que muestra la distribución de la frecuencia relativa de los grados de severidad del carbón del maní en los lotes relevados de 2015 a 2020. La línea sólida en las cajas representa la mediana, los puntos blancos la media, los límites inferiores y superiores de las cajas representan los percentiles 25 y 75 de los datos respectivamente, y los puntos negros representan valores atípicos (outliers).

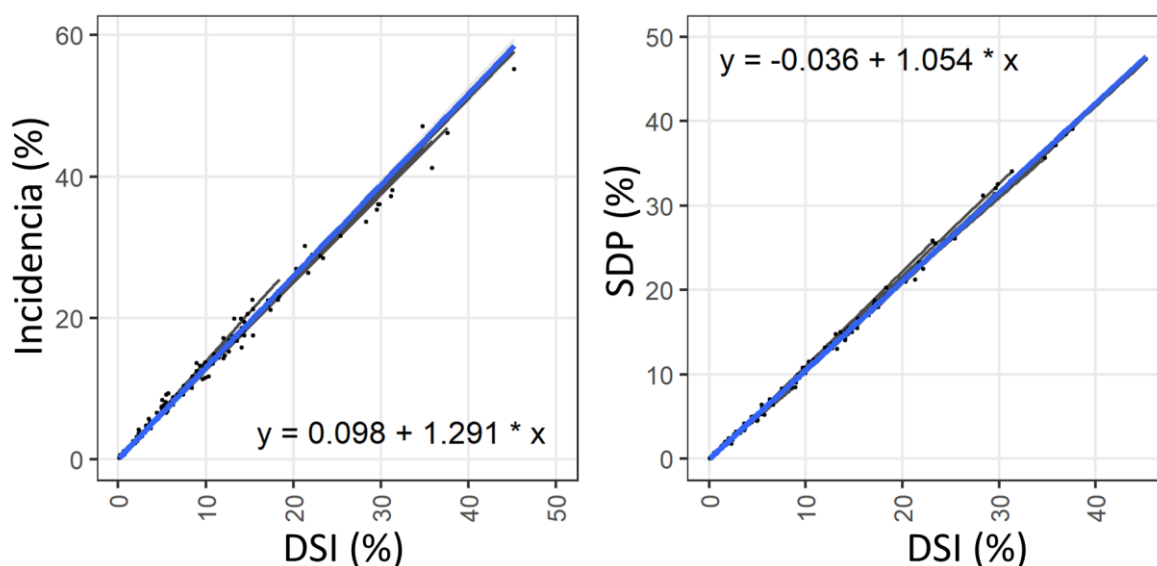
### Análisis de relaciones de métricas de intensidad de carbón

La regresión lineal proporcionó un buen modelo para evaluar la relación entre las métricas de la intensidad del carbón (ver gráficas de diagnóstico del modelo en la **Figura S 3.1**). Se utilizó una amplia cantidad de datos de carbón para el análisis, 74 campos fueron agrupados en 20 ambientes (departamento x año). A partir del análisis desglosado de la incidencia de cada grado de severidad en función de la incidencia total de cada lote, se observó que la mejor representación de la incidencia de la enfermedad fue dada por los grados de severidad 3 y 4 ( $\beta_1 = 0,45$  y  $0,35$  respectivamente;  $P < 0,001$ ). Las pendientes más bajas se observaron en las vainas poco afectadas (LDP), con  $0,075$  y  $0,104$  para los grados de severidad 1 y 2, respectivamente (RMSE =  $0,736$  y  $0,508$ , respectivamente;  $P < 0,001$ ). Además, en el análisis se incorporó la incidencia de las vainas severamente afectadas (SDP) y se obtuvo un  $\beta_1 = 0,81$  ( $P < 0,001$ ; RMSE =  $0,392$ ) (**Figura 3.4**).



**Figura 3.4.** Líneas de regresión para las relaciones entre la incidencia de los grados de severidad y la incidencia total del carbón del maní en lotes relevados del 2015 al 2020 en la provincia de Córdoba. Las líneas grises continuas representan las relaciones específicas del estudio, la línea azul continua representa la regresión lineal y el área sombreada gris representa el intervalo de confianza del 95%.

Finalmente, se evaluó la relación entre la incidencia de la enfermedad y la incidencia de las vainas severamente afectadas (SDP) con el índice de severidad (DSI) (**Figura 3.5**). La incidencia del carbón aumentó a lo largo de los valores de DSI con una tasa lineal de 1,291. Con una relación más estrecha se encuentra la incidencia de SDP con respecto al DSI ( $\beta_1 = 1,054$ ; RMSE = 0,392).



**Figura 3.5.** Regresión lineal de la incidencia de la enfermedad (izquierda) y vainas severamente afectadas (SDP) (derecha) en función del índice de severidad de la enfermedad (DSI) del carbón del maní en lotes relevados del 2015 al 2020 en la provincia de Córdoba.

## DISCUSIÓN

Desde el primer reporte de carbón en maní comercial en 1995, la incidencia y prevalencia de la enfermedad han aumentado gradualmente en la principal región productora de maní de Argentina (Marinelli et al., 2010; Paredes et al., 2016; Rago et al., 2017; Asinari et al., 2019). Tomando como base los resultados de los relevamientos evaluados en este estudio, en los últimos cinco años (2015–2020), la incidencia del carbón del maní y el DSI aumentaron de 1,67 a 11,47 % y de 1,36 a 8,73, respectivamente. Igualmente, se espera que la enfermedad continúe incrementándose debido a la falta de adopción de prácticas de manejo para controlar el carbón (Rago et al., 2017).



Entre las razones del aumento de la intensidad de la enfermedad se encuentra la falta de estrategias claras de manejo para el control de la enfermedad y la escasa diversificación de cultivares en las áreas de siembra (Rago et al., 2017). Los datos de estos relevamientos fueron todos recolectados de cultivares comerciales sin resistencia al carbón, donde estos resultados indican que la intensidad y el análisis están asociados con cultivares susceptibles. En este sentido, variaciones genética en los patógenos puede diferenciar variabilidades en la agresividad (Pariaud et al., 2009), donde el grado de variabilidad genética de *T. frezii* actualmente no está descrito, indicando una posible variabilidad fenotípica en su virulencia.

En general, se considera que la dispersión de la mayoría de los patógenos de suelo es muy limitado (Katan, 2017). Sin embargo, la propagación del carbón a otros campos o regiones es notable, lo que indica que tiene medios efectivos para la dispersión. Una de las formas más efectivas de propagación de este tipo de patógenos es por medio de plantas infectadas, semillas, tubérculos, trasplantes o esquejes. Otros medios de dispersión pueden ser a través de herramientas y máquinas agrícolas, agua y viento (Rekah et al., 1999). En Argentina, el aumento de la intensidad y prevalencia de la enfermedad se produjo en un período relativamente corto. Las teliosporas de *T. frezii* lograron esparcirse por campos libres de carbón a través de semillas infestadas (Cazón 2015; Rago et al., 2017). Uno de los factores de gran importancia en la contaminación y propagación del patógeno por semilla, hasta inclusive alcanzar una prevalencia del 100 % en la zona manisera, fue que las empresas maniseras procesan al maní comercial y a las semillas de maní en las mismas industrias (Rago et al., 2017). De esta manera, vainas carbonosas que liberan grandes cantidades de teliosporas pueden contaminar las mismas semillas y ser transportadas a distintos lotes de la región.

Las características poliéticas de la enfermedad (acumulación anual de inóculo en campo en campañas posteriores), sumadas a la capacidad de sobrevivencia de las teliosporas en el suelo, incrementaron la incidencia y prevalencia de la enfermedad (Cazón et al., 2016b). Como se observa en este estudio, las vainas severamente afectadas (SDP) representan las principales infecciones de carbón, y estos grados de severidad son los más importantes en la producción de teliosporas. La intensidad de los síntomas del carbón (SDP) tienen una relación directa con el aumento del inóculo en los suelos, ya que muchas de estas vainas se rompen en la cosecha (Paredes et al., 2017c). El principal mecanismo de propagación del inóculo es la liberación de teliosporas de las vainas rotas infectadas durante el proceso de trilla, gran cantidad de estas teliosporas pueden dispersarse por el viento. Los programas de manejo de enfermedades deben

considerar la fácil propagación del inóculo a distancias cortas (Rago et al., 2017). Además, la mayoría de las plantas procesadoras de maní están ubicadas en la misma región productora (Agüero 2017; Asinari et al., 2019). Las vainas carbonosas cosechadas en los lotes infestados pueden llevarse a las industrias y romperse durante el procesamiento del maní. Esto conduce a un alto volumen de teliosporas que pueden dispersarse y acumularse en los campos alrededor de las industrias. Esta observación es confirmada por las mayores incidencias de carbón en cercanía de las industrias procesadoras. Además, la incidencia regional donde están establecidas las industrias registra los valores más altos de incidencia (Tercero Arriba y Juárez Celman).

Las vainas infectadas y rotas durante el proceso de cosecha, sumado a la movilización del suelo en este mismo proceso de trilla, podrían conducir a una distribución homogénea de las teliosporas en el suelo. La distribución del inóculo en el suelo está generalizada en la provincia de Córdoba, según la incidencia registrada en diferentes relevamientos (Paredes 2017; Cazón et al., 2018; Asinari et al., 2019). Fiers et al., (2012) indicaron que para algunos patógenos de suelo en enfermedades de la papa, no siempre existe una relación clara y lineal entre el inóculo de suelo y la enfermedad, un umbral de inóculo mínimo es necesario para iniciar el desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, la severidad generalmente aumenta con un nivel creciente de inóculo. Aunque la incidencia del carbón es dependiente del inóculo del suelo (Paredes et al., 2019), estos resultados demuestran que la intensidad de los síntomas no difiere entre distintos niveles de incidencia. Esto es confirmado de acuerdo a la frecuencia de cada grado de severidad, donde no fueron observadas diferencias estadísticamente en función de las distintas incidencias.

En algunos patosistemas la severidad es más difícil de evaluar, pero estima con mayor precisión la intensidad, especialmente en enfermedades foliares (Marcuzzo y Carvalho 2017). Los niveles de la escala de severidad del carbón están bien diferenciados (Astiz Gasso et al., 2008). Sin embargo, se observó una mayor dispersión de datos cuando eran grado de severidad 1, donde los síntomas son más difíciles de diferenciar. El mismo resultado fue observado por Bennett et al., (2021), quienes observaron que era más probable que ocurrieran errores en la medición de la incidencia cuando la severidad era baja (es decir, es más probable que se pase por alto un pequeño soro solitario). En muchos patógenos existe una tendencia generalizada a sobreestimar la intensidad de la enfermedad en niveles bajos (<10 %) (Bock et al., 2010).

En este estudio se observó una fuerte relación entre la severidad de la enfermedad y la incidencia. Esto confirma y es consistente con los resultados de otros investigadores, que existe una correlación positiva y significativa entre la incidencia y la severidad (Marraro Acuña et al., 2014; Bennett et al., 2021; Kearney et al., 2021). Una fuerte correlación entre incidencia y severidad permite seleccionar germoplasma registrando únicamente la incidencia (Seem 1984). Sin embargo, nuevos genotipos pueden tener una mayor resistencia basada en la disminución del desarrollo de síntomas, en este caso podría ser necesario un ajuste en las relaciones de incidencia intensidad. Marraro Acuña et al., (2014) evaluaron la intensidad del carbón de 10 genotipos y concluyeron que para el carbón del maní, los datos de incidencia son suficientes para evaluar los niveles de resistencia. Del mismo modo, Bennett et al., (2021) sugirieron un enfoque de fenotipado alternativo que se basa únicamente en la calificación de las vainas por la incidencia de la enfermedad. De acuerdo con los resultados demostrados en este análisis, las pendientes indican la importancia de cada grado de severidad en la incidencia de la enfermedad. Las vainas severamente afectadas (SDP) representa más del 80 % de las infecciones, lo que demuestra cuán agresivo es el carbón del maní. Además, las clases 3 y 4 representan el mayor impacto en la pérdida de rendimiento, ya que los granos se transforman completamente lo que además repercute en la calidad de maní para la industria. La relación entre incidencia y severidad también puede compararse con las pérdidas de rendimiento. Paredes (2017) mostró una relación lineal significativa entre las pérdidas de rendimiento estimadas y la intensidad de la enfermedad.

Las limitantes de agua y las condiciones de estrés por sequía pueden influir en la infección y la severidad de las enfermedades (Kambiranda et al., 2011). Los aumentos en la susceptibilidad o tolerancia dependen de las interacciones específicas del patógeno y el ambiente. En el caso de nematodo de la papa (*Globodera* spp.), la relación entre la densidad del inóculo y la severidad de la enfermedad depende en gran medida de los factores ambientales que determinan el nivel de supresión del suelo (Fiers et al., 2012). Según nuestra experiencia, el carbón del maní presenta mayores incidencias cuando se acumulan menos precipitaciones durante la etapa fenológica de clavado (enero a marzo), por períodos de estrés hídrico (desarrollo en el Capítulo 4.2). Sin embargo, no se observaron diferencias en las frecuencias de los grados de severidad del carbón para este estudio.

Las enfermedades causadas por patógenos del suelo causan importantes pérdidas en diversos cultivos (Katan 2017), siendo en muchos casos destructivos y de gran importancia económica. El carbón de la papa (*Thecaphora solani*) es una de las enfermedades fúngicas más importantes que afectan a la papa. En la zona norte de Chile, esta enfermedad se establece en los suelos, causando importantes pérdidas de rendimiento que muchas veces superan el 90 % (Andrade et al., 2004). El carbón del maní tuvo un aumento notable en la incidencia de enfermedades a lo largo de los años (Asinari et al., 2019). Otros patógenos de suelo, como lo es *Synchytrium endobioticum* en el cultivo de papa, es considerada una enfermedad altamente destructiva, pudiendo causar una pérdida del 100 % del rendimiento potencial de tubérculos (Wale et al., 2011). En el caso del patosistema carbón-maní, no se cuentan registros de incidencias del 100 %, incluso en situaciones experimentales con alta cantidad de teliosporas en el suelo (>15.000 teliosporas/g de suelo). Se ha determinado que las pérdidas de rendimiento pueden ir en aumento en el transcurso de los años, donde en campos altamente infestados (incidencia >50 %), la pérdida de rendimiento estimada fue de un 35 % (Paredes 2017).

En conclusión, los datos del presente estudio proporcionan información relevante sobre la relación entre la incidencia y la severidad del carbón. El carbón del maní es un patógeno de alta agresividad, es decir, es muy probable que una vaina infectada tenga una severidad alta, como lo confirma la estrecha relación entre los grados de severidad de vainas severamente afectadas y la incidencia.

Diversos factores han contribuido a la propagación del carbón en la provincia de Córdoba, lo que lo convierte en el problema fitopatológico de mayor importancia en la producción manisera argentina. El principal componente de incremento de inóculo en el suelo es la gran producción de teliosporas en las vainas severamente afectadas (vainas grado 3 y 4). Adicionalmente, la alta agresividad de la enfermedad resulta en mayores frecuencias de estos grados de severidad en las infecciones de carbón. Como consecuencia, esto resulta en una alta producción de teliosporas en los lotes, con la constante acumulación y dispersión entre los campos. De esta forma, se direccionó a un incremento constante del carbón en la principal zona productora de maní.

Los resultados obtenidos en este trabajo contribuyen en el conocimiento de la enfermedad. La enfermedad puede ser evaluada por las vainas severamente afectadas (SDP), de acuerdo con los datos obtenidos, que tuvo la mejor representación del índice de severidad

(DSI), y es un método rápido para cuantificar la intensidad del carbón del maní. Tanto SDP como la incidencia se pueden adoptar con fines de monitoreo, detección de genotipos en programas de mejoramiento o comparaciones de tratamientos en experimentos de manejo de carbón.

## **CONCLUSIONES**

- Las vainas severamente afectadas (SDP) constituyen aproximadamente el 80 % de las vainas infectadas por *T. frezii*.
- La enfermedad puede ser evaluada por las vainas severamente afectadas (SDP), siendo la mejor representación del índice de severidad de la enfermedad.

### 3. REPRODUCCIÓN DE *Thecaphora frezii*

#### 3.2 DINÁMICA DE LA CONCENTRACIÓN DE TELIOSPORAS

“*Cuantificar la evolución del inóculo de T. frezii posterior a un ciclo del cultivo*”

#### INTRODUCCIÓN

El carbón es una de las enfermedades fúngicas del maní responsable de pérdidas significativas en la producción manisera argentina en la última década (Paredes et al., 2016; Paredes 2017; Cazón et al., 2018). Durante los últimos 15 años, los valores de incidencia fueron incrementándose en la provincia de Córdoba (Paredes 2017; Rago et al., 2017; Asinari et al., 2019; Paredes et al., 2021b). Las mayores incidencias de la enfermedad fueron registradas en campos cercanos a las plantas de procesamiento y en áreas con un alto historial de producción de maní, como los departamentos de Tercero Arriba y Juárez Celman (Asinari et al., 2019; Paredes et al., 2021b).

*T. frezii* invade agresivamente las vainas, transformando los granos en una masa carbonosa de teliosporas. Los síntomas del carbón varían desde un pequeño soro o pústula, hasta la transformación completa de uno o dos granos en carbón (Astiz Gasso et al., 2008; Rago et al., 2017). Las vainas severamente afectadas (SDP) son la fuente más importante de multiplicación de inóculo (Paredes et al., 2017c, 2021b). Se considera SDP cuando al menos un grano está completamente carbonoso (severidad grado 3 o 4) (Paredes et al., 2021a).

Al ser el carbón del maní una enfermedad monocíclica (Arias et al., 2021), la intensidad de la enfermedad depende en gran medida de la cantidad de teliosporas que hay en el suelo al momento de la siembra del cultivo (inóculo inicial), siendo uno de los parámetros que mejor explica la epidemia (Campbell y Madden 1990; Agrios, 2005). Una alternativa de manejo es la selección de campos con menor carga de inóculo (Rago et al., 2017) que, además de conducir a menores incidencias de la enfermedad, será menor la cantidad de inóculo generado en el lote por las propias infecciones de carbón (Paredes et al., 2017c). La identificación fácil y precisa de esporas de hongos y bacterias es relevante para aspectos del manejo de enfermedades de plantas (Wagner y MacHer 2012). Actualmente la determinación de inóculo en suelo se realiza

por observación y cuantificación con microscopio óptico. La microscopía óptica, técnica analítica ampliamente utilizada, es compatible con varios formatos de muestras y requiere una preparación mínima de las mismas. Sin embargo, este procedimiento es laborioso, de alta demanda de tiempo y de personal entrenado para cada observación, además ofrece resultados aproximados, con baja precisión y exactitud. Si bien se están desarrollando estrategias moleculares para la detección de teliosporas de *T. frezii* (Cazón 2015; Cazón et al., 2016a; Conforto et al., 2019), aún no existe un protocolo ni técnica disponible para determinar de manera efectiva las teliosporas de carbón en los suelos utilizando una metodología molecular.

La liberación de teliosporas por el rompimiento de vainas infectadas durante el proceso de cosecha es el principal mecanismo de propagación del inóculo de *T. frezii*. Las infecciones producidas durante la estación de cultivo generan grandes cantidades de teliosporas que luego de la cosecha, van a permanecer en el suelo contribuyendo al incremento de la carga de inóculo para las próximas campañas. En la actualidad, hay muy poca información sobre la magnitud del incremento del inóculo después de la cosecha de un campo infectado. Por esta razón se planteó como objetivo cuantificar la evolución del inóculo de *T. frezii* posterior a un ciclo del cultivo.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Descripción y sitios del muestreo**

Para este estudio observacional, se seleccionaron 35 lotes de maní de relevamientos regionales (Ver Capítulo 3.1) durante las campañas 2016-17 a la campaña 2019-20, distribuidos de manera aleatoria en la provincia de Córdoba. Los lotes muestreados correspondían a lotes comerciales, con manejos agronómicos estándar de producción, utilizando cultivar Granoleico (altamente susceptible al carbón) y en ningún caso fueron aplicadas estrategias de manejo para la enfermedad.

En cada lote se evaluó la intensidad del carbón en el momento de la inversión del cultivo (antes de la cosecha), recolectando todas las plantas en 1 metro de surco, en cuatro estaciones de muestreo en el área central de cada lote. Datos de incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad del carbón (DSI) fueron utilizados para el análisis.

### **Toma de muestras de suelo y cuantificación de inóculo**

Dos momentos de muestreo de suelo fueron realizados en cada lote para determinar el inóculo inicial y el inóculo final respectivamente. El primer muestreo de suelo (inóculo inicial) fue realizado antes de la siembra o en estado vegetativo temprano del cultivo (emergencia o  $V_n$ ) (meses de octubre-noviembre). El segundo muestreo de suelo (inóculo final) fue realizado inmediato a la cosecha del lote (meses de junio-julio). Cada muestra de suelo estuvo compuesta por 30 submuestras, las cuales fueron tomadas utilizando un barreno de 2,5 cm de diámetro con recipiente colector y a una profundidad de 5 cm, en una transecta en V en el centro del lote, separadas 30 m cada una (Paredes et al., 2017b; Peralta y Kearney 2018). Ambos momentos de muestreo fueron recolectados en la misma zona de cada lote (~25 ha).

Las muestras de suelo se prepararon individualmente, se secaron a temperatura ambiente (temperatura ambiente ~30 °C) durante 2 días y se homogeneizaron completamente para pasarlas por un tamiz de 2 mm. De cada muestra se pesaron 2 g y se disolvieron en 50 ml de agua destilada. Homogeneizada la solución por agitación continua, una alícuota de 25  $\mu$ l fue colocada en un portaobjetos y se cubrieron con cubreobjetos de 18 mm<sup>2</sup>. Observando el cubreobjetos completo por barrido, se realizó el recuento de teliosporas bajo microscopio óptico (20X) mediante el reconocimiento morfológico de las teliosporas de *T. frezii*. Este



procedimiento fue repetido de seis a nueve veces. El conteo promedio de teliosporas se extrapoló en el total de la dilución y se calculó la densidad del inóculo, expresada como teliosporas por gramo de suelo (teliosporas g<sup>-1</sup> suelo).

### **Análisis de los datos**

Cada lote fue clasificado de manera arbitraria según el nivel de enfermedad cuantificado porcentaje de vainas severamente afectadas (SDP) por el carbón, siendo “bajo”, “medio” o “alto”, cuando el porcentaje de SDP correspondía a valores menor a 3, de 3 a 10, o mayor a 10 % respectivamente. Esto se realizó para tener una referencia del potencial inóculo que puede tener ese lote (Paredes et al., 2017c; Rago et al., 2017).

Se calculó el aumento de las esporas durante el ciclo de cultivo para cada lote de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$Q_1 = Q_0 + \text{incremento} \quad (3.1)$$

donde,  $Q_1$  representa la cantidad de inóculo final, y será igual a la suma del inóculo inicial ( $Q_0$ ) y el *incremento* como resultado de la multiplicación del inóculo durante la temporada (Arneson 2001).

Además, fue calculada la proporción de incremento de esporas, que será función del  $Q_0$  y una constante de proporcionalidad de incremento  $K$ , y el inóculo final (Arneson 2001). En este sentido,  $K$  será la proporción de incremento de esporas, que será calculada despejando la función:

$$Q_1 = Q_0 + K Q_0 \quad (3.2)$$

Análisis de correlación de Pearson entre los parámetros de la enfermedad, inóculo inicial y final, y la proporción y el aumento de esporas fueron analizados para todos los campos evaluados.

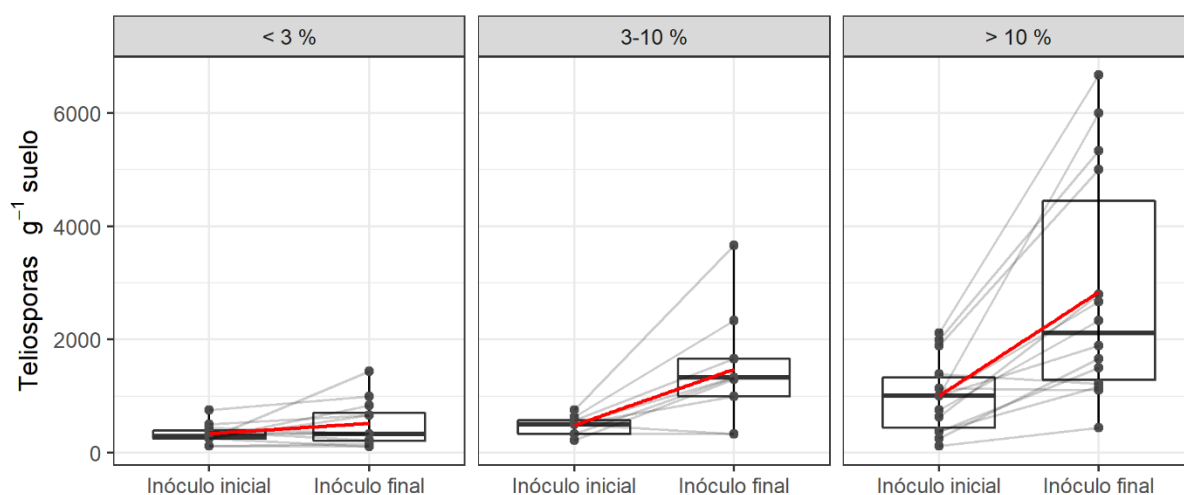
Análisis de comparación de medias fueron realizados para las diferentes variables según test de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Todos los datos se analizaron en R versión 4.0.5 (Team R Development Core 2018).

## RESULTADOS

Todos los campos muestreados estuvieron infestados con inóculo de *T. frezii*, con rangos de 125 a 2.115 teliosporas  $g^{-1}$  de suelo. En todos los lotes se observaron infecciones naturales de carbón, con registros de SDP de 0,47 a 32,55 % como valor mínimo y máximo respectivamente. De los 35 lotes relevados, 12, 9 y 14 lotes se clasificaron como bajo, medio o alto nivel de enfermedad, respectivamente. Todos los datos obtenidos están registrados en la **Tabla S 3.2**.

No hubo interacción entre el incremento de inóculo de *T. frezii* y el año de muestreo. En seis lotes no se observó incremento del inóculo posterior al ciclo de cultivo, que corresponden a cinco lotes con baja intensidad de carbón (< 3 % SDP), y uno con media intensidad (3,3 % SDP). El mayor incremento en número de teliosporas por gramo de suelo se observó en lotes con alto nivel de enfermedad, mientras que el menor número se observó en los lotes con bajo nivel de enfermedad respectivamente (**Figura 3.6**).



**Figura 3.6.** Gráfico de caja (boxplot) del número de teliosporas por gramo de suelo para inóculo inicial e inóculo final, clasificados en función del porcentaje de vainas severamente afectadas, mostrando el incremento de las teliosporas. La línea sólida en las cajas representa la mediana, los límites inferiores y superiores de las cajas representan los percentiles 25 y 75 de los datos respectivamente, los puntos negros son observaciones. La línea gris sólida indica la conexión que existe entre el inóculo inicial y final del mismo lote, y la línea roja indica la conexión entre la media del inóculo inicial y el inóculo final para los lotes evaluados.

Los menores registros de carbón correspondieron a situaciones con un menor contenido de inóculo inicial en los suelos. La cantidad inicial de teliosporas en los lotes de bajo y alto nivel de enfermedad fue estadísticamente diferente ( $P < 0,05$ ). De igual manera, la proporción de incremento y el aumento de teliosporas, se diferenciaron estadísticamente para ambos niveles de enfermedad (**Tabla 3.2**).

**Tabla 3.2.** Medidas resúmenes y comparaciones de las mediciones de inóculo en suelo inicial y final, las vainas severamente afectadas (SDP) y los incrementos de teliosporas, clasificados según el nivel de enfermedad.

Nivel de enfermedad (SDP %)	Inóculo inicial <sup>a</sup>	SDP (%) <sup>a</sup>	Inóculo final <sup>a</sup>	Proporción de incremento <sup>a</sup>	Aumento de teliosporas <sup>a</sup>
< 3 %	338 ± 51 a	1,53 ± 0,21 a	519 ± 119 a	0,68 ± 0,44 a	180 ± 113 a
3-10 %	486 ± 48 ab	6,41 ± 0,64 b	1477 ± 297 b	2,05 ± 0,57 ab	991 ± 307 ab
> 10 %	1006 ± 187 b	16,63 ± 2,25 c	2843 ± 589 b	2,25 ± 0,43 b	1845 ± 429 b

<sup>a</sup> Medias obtenidas de todas las observaciones ± el error estándar, para cada variable según el nivel de enfermedad como porcentaje de vainas severamente afectadas (SDP %). Letras diferentes en las columnas indican diferencias estadísticamente significativas según test de comparación de medias Tukey ( $P < 0,05$ ).

Para los tres niveles de enfermedad, se observaron incrementos en la cantidad de teliosporas de un 60 % cuando el inóculo y la intensidad del carbón es baja, mientras que en promedio el inóculo incrementa ~ 200 % cuando el porcentaje de SDP es mayor a 3 %. Esto corresponde a un incremento promedio de 180, 991 o 1.845 teliosporas de *T. frezii* por gramo de suelo según el nivel de enfermedad bajo, medio o alto, respectivamente. El aumento de inóculo no fue estadísticamente significativo para lotes con bajo nivel de enfermedad (< 3 % SDP), pero sí fue significativo ( $P < 0,05$ ) para lotes de medio y alto nivel de enfermedad.

### Análisis de correlación

Se observó una alta correlación positiva y significativa (0,82;  $P < 0,05$ ) entre el aumento en el número de teliosporas y los parámetros de la enfermedad. Sin embargo, no se observó una correlación significativa entre la proporción del incremento de teliosporas con el inóculo inicial ni con los parámetros de enfermedad. A su vez, el inóculo inicial se correlacionó positiva y significativamente (0,65;  $P < 0,05$ ) con el aumento de teliosporas, indicando que a mayor número inicial de teliosporas de *T. frezii* en el suelo, el incremento de las teliosporas al final de ciclo de cultivo será mayor (**Tabla 3.3**).

**Tabla 3.3.** Análisis de correlación de Pearson para inóculo inicial y final de *Thecaphora frezii*, el aumento y la proporción de incremento de teliosporas, y los parámetros de enfermedad de incidencia, vainas severamente afectadas (SDP), índice de severidad (DSI). Datos relevados de lotes comerciales entre los años 2016-17 a 2019-20.

	<b>Inóculo inicial</b>	<b>Inóculo final</b>	<b>Aumento de teliosporas</b>	<b>Proporción de incremento</b>	<b>Incidencia</b>	<b>SDP</b>	<b>DSI</b>
<b>Inóculo inicial</b>	--	0,81*	0,65*	-0,02 ns	0,83*	0,82*	0,83*
<b>Inóculo final</b>	0,81*	--	0,97*	0,47*	0,83*	0,82*	0,82*
<b>Aumento de teliosporas</b>	0,65*	0,97*	--	0,61*	0,74*	0,73*	0,73*
<b>Proporción de incremento</b>	-0,02 ns	0,47*	0,61*	--	0,29 ns	0,29 ns	0,28 ns

\* corresponde a correlaciones significativa ( $P < 0,05$ ); ns corresponde a correlaciones no significativas

## DISCUSIÓN

En ciertas epidemias de gran importancia agronómica como *Huanglongbing* (HLB) en cítricos o ciertas virosis, como begomovirus en tomate, el inóculo primario juega un papel importante tanto en el inicio como en la intensificación de la epidemia (Bergamin Filho et al., 2016). Para el carbón del maní, el inóculo de *T. frezii* en suelo se ve incrementado posterior a un ciclo de cultivo, producto de las infecciones de carbón, como es reportado en este trabajo. El aumento de teliosporas será mayor en función del número de teliosporas inicial y el porcentaje de vainas severamente dañadas. El inóculo generado, al ser una enfermedad poliética, se acumulará en los suelos incrementando consecuentemente la intensidad de la enfermedad a lo largo del tiempo.

Las relaciones entre la densidad de inóculo y la incidencia de las enfermedades, han sido muy investigadas y se han propuesto numerosos modelos para describirlas (Van der Plank 1963; Campbell y Madden 1990). En general la incidencia aumenta al aumentar la densidad de inóculo, pero esta relación no suele ser lineal (Katan 2017). Para *T. frezii* se observó que las mayores intensidades de carbón correspondían a lotes con mayor densidad de inóculo en los suelos. Katan (2017) indica que la densidad de inóculo no necesariamente refleja la eficiencia del inóculo, por lo tanto, el uso de densidad de inóculo para predecir los niveles de enfermedad tiene sus limitaciones. Bajo este criterio, en este trabajo los lotes fueron clasificados en función de la expresión de la enfermedad (% SDP) en lugar de la densidad de inóculo.

La multiplicación y acumulación del inóculo de *T. frezii* en los suelos generó zonas en el área manisera donde la presión de la enfermedad es baja, media o alta (Paredes 2017; Asinari et al., 2019). Diversos estudios indican que las primeras introducciones de esporas en los suelos fueron debido al transporte por semillas (Marinelli et al., 2010), siendo la principal fuente de dispersión del patógeno a largas distancias y a lotes no infestados (Cazón 2015). Esporas de *T. frezii* transportadas por semillas o maquinaria agrícola contaminarán los suelos maniseros. En un principio estos aportes representarán bajas infecciones, incluso sin detectar incrementos significativos, tal como fue observado en los lotes de bajo nivel de enfermedad en este estudio, pero que permitirán aumentar la cantidad de inóculo en los suelos con el transcurso de los años.

La metodología utilizada en este trabajo fue realizada por conteo visual a microscopio, sin embargo, en la cuantificación muchas veces hay confusiones de teliosporas con partículas de suelo, arrojando estimaciones poco confiables (Conforto et al., 2019). En estudios

preliminares utilizando la misma metodología de cuantificación de esporas, se contrastó la incidencia de la enfermedad con los valores de inóculo de suelo antes de la siembra (Paredes et al., 2019). En esos estudios fue observada una gran variabilidad entre la incidencia y las teliosporas detectadas en suelo, donde para un mismo valor de incidencia se correspondía un amplio rango de conteos de teliosporas. Es por esto que se sugiere utilizar el número de teliosporas en suelo como un indicador de riesgo de ocurrencia en un rango de enfermedad, es decir, clasificar los lotes según la probabilidad de contar con altas (> 20 %) o bajas (< 5 %) incidencias de carbón. Por ejemplo, un lote de alto riesgo (> 20 % incidencia) podrá encontrarse con conteos superiores a las 1.000 teliosporas g<sup>-1</sup> suelo. Si bien los resultados obtenidos en este estudio muestran estimaciones consistentes del incremento de teliosporas, los valores numéricos de conteos podrían estar sujetos a una falta de precisión o exactitud en la determinación exacta del inóculo en suelo.

La prevención es una de las estrategias más importantes en el manejo integrado de enfermedades (Van der Plank 1963; Campbell y Madden 1990; March et al., 2010). Para enfermedades monocíclicas, como en muchos patógenos de suelo, la expresión de la enfermedad depende en gran medida de la cantidad de inóculo detectado en el suelo, tal es el caso de *Verticillium dahliae* en girasol (*Helianthus annuus*) (Erreguerena et al., 2019), *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *S. minor* en maní (*Arachis hypogaea*) (Marinelli et al., 1998; March y Marinelli 2005), entre otros. Para el carbón del maní, Rago et al., (2017) señalan la importancia de la elección de lotes con bajo inóculo de *T. frezii* al momento de la implantación, donde el cultivo estará sometido a una escasa presión de inóculo que resultará en bajas incidencias de la enfermedad. Esto concuerda con lo observado en este trabajo, donde en lotes con las menores densidades de inóculo inicial se registran menores niveles de enfermedad y, por lo tanto, se generan menores cantidades de teliosporas.

Contar con la información del inóculo previo a la siembra es señalado como una estrategia fundamental en el manejo de la enfermedad (Marinelli et al., 2010; Oddino et al., 2010). En este sentido cobran importancia los métodos de determinación sensibles y eficientes para detectar el inóculo de *T. frezii* en suelo (Conforto et al., 2019). En los últimos años, se han desarrollado herramientas moleculares confiables y rápidas para la evaluación de patógenos habitantes de suelo y su uso va en aumento (Lievens et al., 2012). Metodologías basadas en el uso de ADN, como secuenciación o reacción en cadena de polimerasa (PCR), permiten aplicaciones de detección avanzadas y mejoran la identificación cuantitativa y cualitativa de

varios tipos de plagas o patógenos. La detección temprana es fundamental para las estrategias de prevención y exclusión, o para cualquier programa de control (Finetti Sialer y Rosso 2007). Con la información del inóculo inicial es posible predecir la incidencia esperada en el cultivo mediante una función que combina ambas variables (Paredes et al., 2019). En este sentido, el conocimiento previo de la incidencia de carbón esperada en el ciclo de cultivo anticipa a la toma de decisión, por ejemplo, basado en estrategias de prevención buscando la implantación de cultivos resistentes, o buscando el manejo de la enfermedad mediante el uso de fungicidas, determinando su impacto y el posible resultado económico (Paredes et al., 2019).

Una ventaja competitiva que tienen otros patógenos de suelo es que tienen un amplio rango de hospedantes, por ejemplo *Sclerotinia sclerotiorum* o *S. minor* son capaces de infectar numerosas especies cultivadas entre las que se destacan soja (*Glycine max*), maní (*A. hypogaea*), girasol (*H. annuus*), garbanzo (*Cicer arietinum*), poroto (*Phaseolus vulgaris*), entre otros, logrando aumentar el inóculo en todas las campañas agrícolas que encuentre hospedantes susceptibles y condiciones favorables (March y Marinelli 2005). Para el caso de *T. frezii*, el único hospedante hasta el momento reportado es maní y especies del género *Arachis*, por lo que el éxito de encontrar nuevamente un cultivo de maní en el mismo lote dependerá de la rotación establecida. Basados en la dinámica del incremento de esporas observados en este trabajo, una mayor intensidad del carbón será observada cuando se siembre maní en ese mismo lote en aproximadamente 4 años, según las recomendaciones de rotación establecidas (Bongiovanni et al., 2017).

Las teliosporas de *T. frezii* son estructuras de resistencia, donde su sobrevivencia es de gran importancia en la epidemiología de la enfermedad (Cazón et al., 2016b, 2018; Rago et al., 2017). Sumado a esto, la gran cantidad de teliosporas generadas en lotes infectados permanecerán viables por muchos años (> 6 años), generando una acumulación constante del inóculo en los suelos. Esto es confirmado por diferentes reportes del progreso de la intensidad de la enfermedad, donde los lotes ubicados en la región históricamente manisera presentan una alta carga de inóculo en sus suelos generando altos registros de incidencias (Paredes 2017; Rago et al., 2017; Asinari et al., 2019; Paredes et al., 2021b).

Comprender las características epidemiológicas como la multiplicación de las teliosporas y la acumulación en los suelos por ser estructuras de resistencia, son necesarias para

focalizar estrategias de control integradas y lograr un entendimiento profundo del riesgo del carbón del maní en el entorno productivo.

## **CONCLUSIONES**

- El inóculo de *T. frezii* en suelo se ve incrementado posterior a un ciclo de cultivo producto de las infecciones de carbón
- El aumento de teliosporas será mayor en función del número de teliosporas inicial y el porcentaje de vainas severamente afectadas (SDP).
- En promedio el inóculo incrementa ~ 200 % cuando el porcentaje de SDP es mayor a 3 %.



## BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO

- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition. Elsevier Academic Press, London, UK. 922 p.
- Agüero D. (2017). Mercado internacional y nacional del maní. En Fernandez E, Giayetto O (Eds.) *El cultivo de maní en Córdoba*, 2da edn. (411–433). Río Cuarto, Argentina: Editorial de la Universidad
- Andrade, O., Muñoz, G., Galdames, R., Durán, P., & Honorato, R. (2004). Characterization, in vitro culture, and molecular analysis of *Thecaphora solani*, the causal agent of potato smut. *Phytopathology*, 94(8), 875-882.
- Arias, S. L., Mary, V. S., Velez, P. A., Rodriguez, M. G., Otaiza-González, S. N., & Theumer, M. G. (2021). Where does the peanut smut pathogen, *Thecaphora frezzii*, fit in the spectrum of smut diseases?. *Plant Disease*, 105(9), 2268-2280.
- Arneson, P. A. (2001). Plant disease epidemiology. En *The plant health instructor*. St. Paul, MN: The American Phytopathological Society.
- Asinari, F., Paredes, J.A., Monguillot, J.H., Rago, A.M. (2019). Últimos años de registros del carbón del maní, ¿hacia dónde vamos? En XXXIV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- Astiz Gasso, M., Leis, R., y Marinelli, A. (2008). Evaluación de incidencia y severidad del carbón de maní (*Thecaphora frezzii*) en infecciones artificiales, sobre cultivares comerciales de maní. En 1 *Congreso Argentino de Fitopatología*. p (Vol. 161).
- Bennett, R. S., Rodriguez, A. V., Baldessari, J. J., Chamberlin, K. D., Payton, M. E., y Wang, N. (2021). A Note on the Association Between *Thecaphora frezzii* Infection and Peanut Pod Density. *Peanut Science*, 48(1), 54-60.
- Bergamin Filho, A., Inoue-Nagata, A. K., Bassanezi, R. B., Belasque, J., Amorim, L., Macedo, M. A., Barbosa, J. C., ... & Savary, S. (2016). The importance of primary inoculum and area-wide disease management to crop health and food security. *Food Security*, 8(1), 221-238.
- Bock, C. H., & Chiang, K. S. (2019). Disease incidence–severity relationships on leaflets, leaves, and fruit in the pecan–*Venturia effusa* pathosystem. *Plant Disease*, 103(11), 2865-2876.
- Bock, C. H., Poole, G. H., Parker, P. E., & Gottwald, T. R. (2010). Plant disease severity estimated visually, by digital photography and image analysis, and by hyperspectral imaging. *Critical reviews in plant sciences*, 29(2), 59-107.
- Bongiovanni, R.G., Troilo, L., Pedelini, R. (2017). Buenas prácticas agrícolas para el cultivo de maní. En Fernandez E, Giayetto O (Eds.) *El cultivo de maní en Córdoba*, 2da edn. (411–433). Río Cuarto, Argentina: Editorial de la Universidad
- Bressano, M., Massa, A. N., Arias, R. S., de Blas, F., Oddino, C., Faustinelli, P. C., Soave, S., Soave, J.H., Pérez, M.A., Sobolev, V.S., Lamb, M.C., Balzarini, M., Buteler, M.I., & Seijo, J. G. (2019). Introgression of peanut smut resistance from landraces to elite peanut cultivars (*Arachis hypogaea* L.). *Plos one*, 14(2), e0211920

- Campbell C., & Madden, L. (1990). *Introduction to plant disease epidemiology*. Wiley, New York, USA.
- Cazón L.I., Paredes, J.A., Bisonard, M., Rago, A.M. (2016b). Capacidad de infección de *Thecaphora frezii* en el tiempo. En XXXI Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. p. 52
- Cazón, I., Conforto, C., Fernandez, F. D., Paredes, J. A., & Rago, A. M. (2016a). Molecular detection of *Thecaphora frezii* in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seeds. *Journal of Plant Pathology*, 327-330.
- Cazón, L. I., Paredes, J. A., y Rago, A. M. (2018). The biology of *Thecaphora frezii* smut and its effects on argentine Peanut production. *Advances in Plant Pathology*. London: IntechOpen Ltd, 31-46.
- Cazón, L.I. (2015). *Detección molecular de Thecaphora frezii Carranza & Lindquist en semillas de maní (Arachis hypogaea L.)*. Tesis de maestría no publicada, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina
- Conforto, C., Dumon, A.D., Bernardi Lima N., Paredes, J.A., Monguillot, J.H., Serri, D.L., Vargas Gil, S.1,2,3 y Rago, A.M (2019). Avances en la detección de *Thecaphora frezii* en muestras de suelo. En: XXXIV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- de Blas, F.J., M. Bressano, I. Teich, M.G. Balzarini, R.S. Arias, M.M. Manifesto, B.P. Costero, C. Oddino, S.J. Soave, J.A. Soave, M.I. Buteler, A.N. Massa, and J.G. Seijo. (2019). Identification of smut resistance in wild *Arachis* species and its introgression into peanut elite lines. *Crop Science* 59:1657–1665.
- Del Ponte, E. M., Pethybridge, S. J., Bock, C. H., Michereff, S. J., Machado, F. J., & Spolti, P. (2017). Standard area diagrams for aiding severity estimation: scientometrics, pathosystems, and methodological trends in the last 25 years. *Phytopathology*, 107(10), 1161-1174.
- Erreguerena, I. A., Rojo, R., Quiroz, F. J., Clemente, G. E., & Escande, A. R. (2019). Relationship between *Verticillium dahliae* inoculum and sunflower wilt in Argentina. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 41(4), 576-584.
- Fiers, M., Edel-Hermann, V., Chatot, C., Le Hingrat, Y., Alabouvette, C., y Steinberg, C. (2012). Potato soil-borne diseases. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 93-132.
- Finetti Sialer, M. M., & Rosso, L. (2007). Molecular detection in integrated pest and disease management. En *General Concepts in Integrated Pest and Disease Management* (pp. 305-328). Springer, Dordrecht.
- Kambiranda, D. M., Vasanthaiah, H. K., Katam, R., Ananga, A., Basha, S. M., & Naik, K. (2011). Impact of drought stress on peanut (*Arachis hypogaea* L.) productivity and food safety. *Plants and environment*, 249-272.
- Katan, J. (2017). Diseases caused by soilborne pathogens: biology, management and challenges. *Journal of Plant Pathology*, 305-315.
- Kearney, M., Zuza, M., Ibañez, M., Peralta, V., Peiretti, G., Alcalde, M., Mojica, C., & Rago, A. (2021). Response of peanut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes to smut (*Thecaphora frezii*) in the peanut growing region of Argentina. *Peanut Science*, 48(1), 61-67.

- Lievens, B., Hanssen, I. M., & Rep, M. (2012). Recent developments in the detection and identification of formae speciales and races of *Fusarium oxysporum*: from pathogenicity testing to molecular diagnostics. *Fusarium wilts of greenhouse vegetable and ornamental crops*, 47-55.
- March G.J., Marinelli, A.D. (2005). Enfermedades del maní en la Argentina. Córdoba, Argentina: Bliglia Impresores.
- March, G.J., Oddino, C.M. y Marinelli, A.D. (2010). Manejo de enfermedades de los cultivos según parámetros epidemiológicos. Córdoba, Argentina: Biglia Impresores. 193 pp.
- Marcuzzo, L. L., & Carvalho, J. (2017). Relações lineares entre incidência e severidade foliar do míldio da cebola. *Summa Phytopathologica*, 43, 344-347.
- Marinelli, A., March, G. J., Rago, A., & Giuggia, J. (1998). Assessment of crop loss in peanut caused by *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. minor*, and *Sclerotium rolfsii* in Argentina. *International journal of pest management*, 44(4), 251-254.
- Marinelli, A., March, G., Oddino, C., Garcia, J., Rago, A., y Zuza, M. (2010) El carbón del maní de 1995 a 2010 de enfermedad emergente a enfermedad endémica y epidémica. En XXV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 28–30
- Marinelli, A., March, G.J., Oddino, C. (2008). Aspectos biológicos y epidemiológicos del carbón del maní (*Arachis hypogaea* L.) causado por *Thecaphora frezii* Carranza & Lindquist. *Agriscientia*, 25(1), 1-6.
- Marraro Acuña, F., Rodríguez, A.V., Edelstein, J.D., Baldessari, J. (2014). Evaluación de la intensidad del carbón del maní. En: XXIX Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- Oddino, C., Marinelli, A., March, G., García, J., Tarditi, L., D'Eramo, L.Y., y Ferrari, S. (2010). Relación entre el potencial inóculo de *Thecaphora frezii*, la intensidad de carbón del maní y el rendimiento del cultivo. En XXV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 24-26
- Paredes, J.A., Cazón, L.I., Rago, A.M., Oddino, C., Soave, J., & S. Soave. (2017b). Determinación de la germinación de esporas de *Thecaphora frezii* sometidas a procesos industriales. XXXII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- Paredes, J. A., Cazón, L. I., Bima, M., Kearney, M. I., Nicolino, J. M., y Rago, A. M. (2017a). Protocolo de toma de muestras y evaluación para un correcto relevamiento del carbón del maní. En XXIII Jornada Nacional de Maní. General Cabrera, Argentina, pp 59–61
- Paredes, J. A., Cazon, L. I., Oddino, C., Monguillot, J. H., Rago, A. M., y Molina, J. E. (2021a). Efficacy of fungicides against peanut smut in Argentina. *Crop Protection*, 140, 105403.
- Paredes, J. A., Edwards Molina, J. P., Cazón, L. I., Asinari, F., Monguillot, J. H., Morichetti, S. A. et.al. (2021b). Relationship between incidence and severity of peanut smut and its regional distribution in the main growing region of Argentina. *Tropical Plant Pathology*, 1-12.

- Paredes, J.A. (2017). *Importancia regional del carbón del maní (Thecaphora frezii) y efecto de ingredientes activos de fungicidas sobre la intensidad de la enfermedad*. Tesis de maestría no publicada, Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Argentina
- Paredes, J.A., Asinari, F., Monguillot, J.H., Edwards, J.P., Oddino, C., y Rago, A.M. (2019). Incidencia del carbón del maní en función del inóculo de *Thecaphora frezii* en el suelo. En XXXIV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- Paredes, J.A., Cazón, L.I., Osella, A., Peralta, V., Alcalde, M., Kearney, M.I., Zuza, M.S., Rago, A.M., Oddino, C. (2016) Relevamiento regional del carbón del maní y estimación de pérdidas producidas por la enfermedad. En: XXXI Jornada Nacional de Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina pp. 53–54
- Paredes, J.A., Cazón, L.I., y Rago, A.M. (2017c). Incremento de inóculo potencial según intensidad del carbón del maní. En XIX Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Chile. p. 143
- Pariaud, B., Ravigné, V., Halkett, F., Goyeau, H., Carlier, J., & Lannou, C. (2009). Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens. *Plant Pathology*, 58(3), 409-424.
- Peralta, V., y Kearney, M. I. (2018). Cuantificación de inóculo de *Thecaphora frezii* y análisis de su dispersión. *Ab Intus*, (1), 18-26.
- Rago, A. M., Cazón, L. I., Paredes, J. A., Molina, J. P. E., Conforto, E. C., Bisonard, E. M., y Oddino, C. (2017). Peanut smut: from an emerging disease to an actual threat to Argentine peanut production. *Plant Disease*, 101(3), 400-408.
- Rekah, Y., Shtienberg, D., y Katan, J. (1999). Spatial distribution and temporal development of Fusarium crown and root rot of tomato and pathogen dissemination in field soil. *Phytopathology*, 89(9), 831-839.
- Seem, R. C. (1984). Disease incidence and severity relationships. *Annual Review of Phytopathology*, 22(1), 133-150.
- Team R Development Core (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Van der Plank, J.E. (1963). *Plant diseases: epidemics and control*. Academic Press.
- Wagner, J., & Macher, J. (2012). Automated spore measurements using microscopy, image analysis, and peak recognition of near-monodisperse aerosols. *Aerosol Science and Technology*, 46(8), 862-873.
- Wale, S. J., Platt, H. W., & Cattlin, N. D. (2011). *Diseases, pests and disorders of potatoes: a color handbook*. London, UK: Manson Publ LTD
- Wann, D. Q., Falco, A., Cavigliasso, M., & Cassano, C. (2020). Phenotypic variation of peanut smut (*Thecaphora frezii*) incidence and severity in the US peanut mini-core collection. *Peanut Science*, 47(2), 46-53.

# INFECCIÓN Y COLONIZACIÓN DE *Thecaphora* *frezii* EN *Arachis hypogaea*

## 4.1. SUSCEPTIBILIDAD

*“Determinar el momento de mayor susceptibilidad de A. hypogaea a la infección por T. frezii, durante el tiempo de clavado y su relación con la severidad de la enfermedad”*

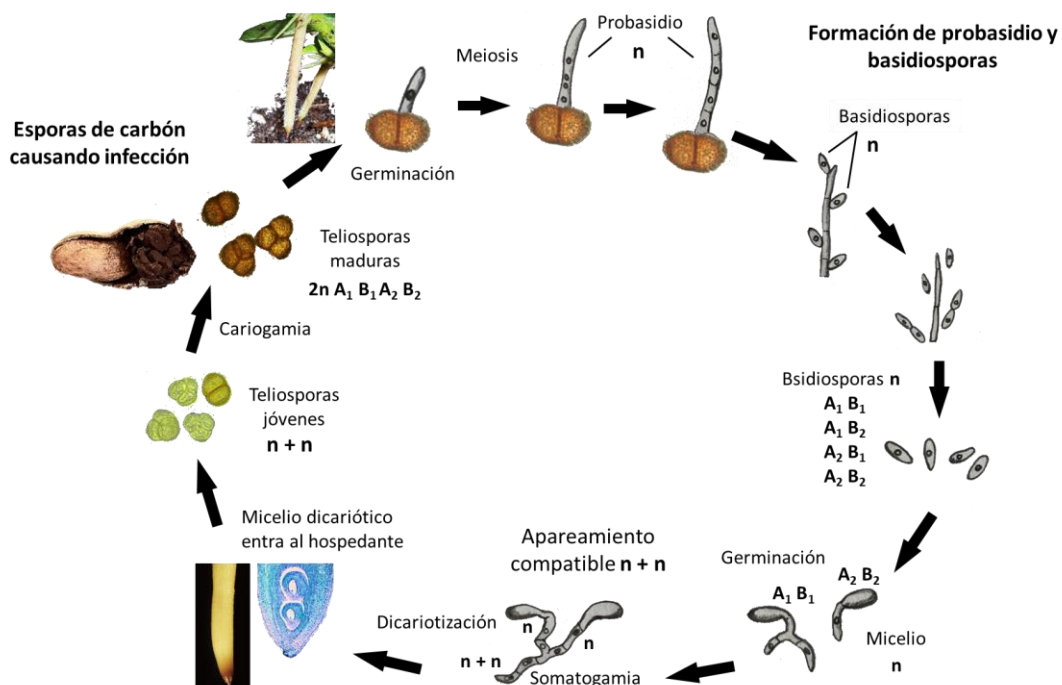
## INTRODUCCIÓN

Los patógenos habitantes de suelo, comúnmente denominados “patógenos de suelo”, pueden afectar diferentes órganos de plantas, como raíz, tallos, frutos, semillas, etc. Las enfermedades causadas por estos patógenos son responsables de importantes pérdidas de rendimiento en todas las áreas de producción de maní del mundo (March y Marinelli 2005; Livingstone et al., 2005; Thiessen y Woodward 2012). Durante la década del 90’, la producción de maní en la provincia de Córdoba estuvo seriamente afectada por patógenos de suelo. Las enfermedades de marchitamiento (*Sclerotium rolfsii*), tizón (*Sclerotinia sclerotiorum*, *S. minor*) y podredumbre parda (*Fusarium* spp.), fueron observados cada vez con mayor frecuencia, amenazando la producción de maní en Argentina (March y Marinelli 2005; Oddino et al., 2007). Esta situación forzó al desplazamiento del área cultivada manisera hacia el sur de la provincia, en búsqueda de suelos con bajas concentraciones de inóculo (Marinelli et al., 1998). Este fenómeno se dio en simultaneo con las primeras detecciones de *T. frezii* en el año 1995 (Marinelli et al., 1995).

Si bien este desplazamiento del área manisera logró escapar a los patógenos de suelo en ese momento, en el transcurso de los años se percibió un incremento constante en la prevalencia e intensidad del carbón. Este incremento de la enfermedad fue debido a la acumulación constante de las esporas en los suelos, en gran medida por no adoptarse estrategias de manejo de la enfermedad (Rago et al., 2017; Paredes et al., 2021a). La falta

de información en el proceso de infección deja de manifiesto el deficiente conocimiento del patosistema, necesario para generar y adoptar estrategias de manejo.

El patosistema carbón-maní es muy específico, donde tanto el patógeno (*T. frezii*) como la planta (*A. hypogaea*) interactúan de manera específica, generando un patosistema único. El fruto del maní es geocárpico, es decir, desarrolla los frutos debajo del suelo. Sin embargo, su floración es aérea, donde, posterior a la fecundación, se produce una elongación del ginóforo o clavo, que se direcciona al suelo. Dada las condiciones de penetrancia y oscuridad, el ovario fecundado en el extremo empieza a desarrollarse formando el fruto (Smith 1950). La infección ocurre cuando el clavo (órgano susceptible) penetra en el suelo, liberando exudados que estimulan la germinación de las teliosporas presentes en el suelo, generando una infección local (Marinelli et al., 2008; Arias et al., 2021). En el momento de la germinación, la teliospora (diploide) forma un tubo germinal donde migra el núcleo, formando un promicelio o probasidio. Luego, el núcleo se divide por meiosis para formar células haploides, desarrollando las basidiosporas (haploides). Las basidiosporas germinan produciendo hifas haploides, las cuales se conjugan con otras de distinta polaridad (somatogamia), se restaura el estado dicariótico y se produce una hifa dicariótica infectiva. Esta hifa es la que penetra en el clavo infectando el ovario fecundado y dará comienzo a la infección (Astiz Gasso et al., 2010; Arias et al., 2021, **Figura 4.**)



**Figura 4.1.** Ciclo de vida del carbón del maní causado por *Thecaphora frezii*

Las características de la floración y fructificación del cultivo, y la sobrevivencia de las teliosporas como órganos de resistencia, generan una situación donde las teliosporas se encuentran a la espera del momento en que la planta genere clavos y penetren en el suelo para lograr la infección y colonización. Una particularidad es que la planta de maní no presenta ningún síntoma visible en la parte aérea, y el patógeno no se transloca a ningún otro órgano de la planta, produce la enfermedad en el mismo órgano que infectan, coloniza y esporula (Marinelli et al., 2008; Astiz Gassó 2017). La infección producida en el ovario acompañará al desarrollo del fruto, y el síntoma será observado en el momento de la cosecha, donde la planta es arrancada, exponiendo las vainas carbonosas, que al momento de romperse y dispersar sus esporas completa su ciclo.

El carbón del maní es especialmente difícil de controlar debido a las características propias del patosistema, como momento fenológico de la infección, el órgano específico en el que se produce la infección y la gran adaptabilidad y agresividad del patógeno (Rago et al., 2017; Cazón et al., 2018; Paredes et al., 2021b). Actualmente se considera que el momento en el que el clavo está ingresando al suelo presenta la susceptibilidad necesaria para que el patógeno pueda penetrar y logre la infección. Sin embargo, la ausencia de información sustancial sobre el proceso de infección no logra definir con claridad este fenómeno, necesario para comprender la biología e interacción planta-patógeno.

Sumado a esto, el maní tiene un período de clavado escalonado en el tiempo, produciendo un ingreso constante de clavos en el suelo, que estarán en contacto con el patógeno. Esta diferencia en el momento de clavado podría estar influyendo en la infección de *T. frezii*. Es prioritario determinar de manera precisa el estado fenológico y de desarrollo del clavo, bajo supuestos de temporalidad, durante la cual ocurren las infecciones que generan una mayor severidad del carbón.

La falta de sustento experimental en la determinación del período de infección y la relación entre la intensidad de la enfermedad y el momento del contacto del inóculo con los clavos, motivó la realización de este estudio. En este sentido, el objetivo determinar el momento de mayor susceptibilidad de *A. hypogaea* a la infección por *T. frezii*, durante el tiempo de clavado y su relación con la severidad de la enfermedad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron dos ensayos en condiciones semicontroladas en invernadero ( $24 \pm 4$  °C), en las instalaciones del IPAVE-CIAP-INTA en la provincia de Córdoba. El primer ensayo se realizó durante la campaña 2019-20 (EXP1) y el segundo en la campaña 2020-21 (EXP2).

Para ambos ensayos el cultivar de maní utilizado fue Granoleico, cultivar altamente susceptible a la enfermedad. Las semillas de maní se lavaron y se colocaron para su germinación en plantineras con sustrato estéril (vermiculita y arena en partes iguales). En estado de plántula, 10 días después de emergencia (DDE) se trasplantaron en macetas plásticas tipo Bol. (4 L; 25 cm de diámetro y 15 de alto) para lograr una planta por maceta. Las plantas se dejaron crecer sin restricciones hídricas, bajo condiciones normales de crecimiento y desarrollo, y se las mantuvo libre de insectos, plagas y con desmalezado manual.

Durante los primeros 10 días de trasplante y previo a la floración, las macetas se inocularon con teliosporas de *T. frezii* colectadas de la campaña anterior. Se adicionó por inundación una suspensión de 0,5 g de teliosporas con 200 ml de agua por maceta. La concentración de teliosporas logradas por macetas fue superior a las 10.000 esp g<sup>-1</sup> suelo, exponiendo a las plantas a un sustrato con alta concentración de teliosporas, con potencialidad de lograr incidencias superiores a 70 % (Paredes et al., 2021a).

Para el ensayo EXP1 el sustrato estuvo compuesto por una proporción arena y tierra negra en partes iguales (provista por el INTA-IPAVE), mientras que para el ensayo EXP2 la proporción fue la misma, pero de arena y suelo del módulo experimental (ubicado en General Deheza, Córdoba), para simular las condiciones edáficas de campo.

Posterior a la floración, se realizó un cuidadoso seguimiento a todas las plantas, identificando los clavos que iniciaron su desarrollo, y que sirvieron como unidad de observación de este estudio. Teniendo en cuenta que la planta de maní tiene floración escalonada, diariamente se registraban todas las plantas, identificando los clavos que estaban próximos a tener contacto con el suelo.

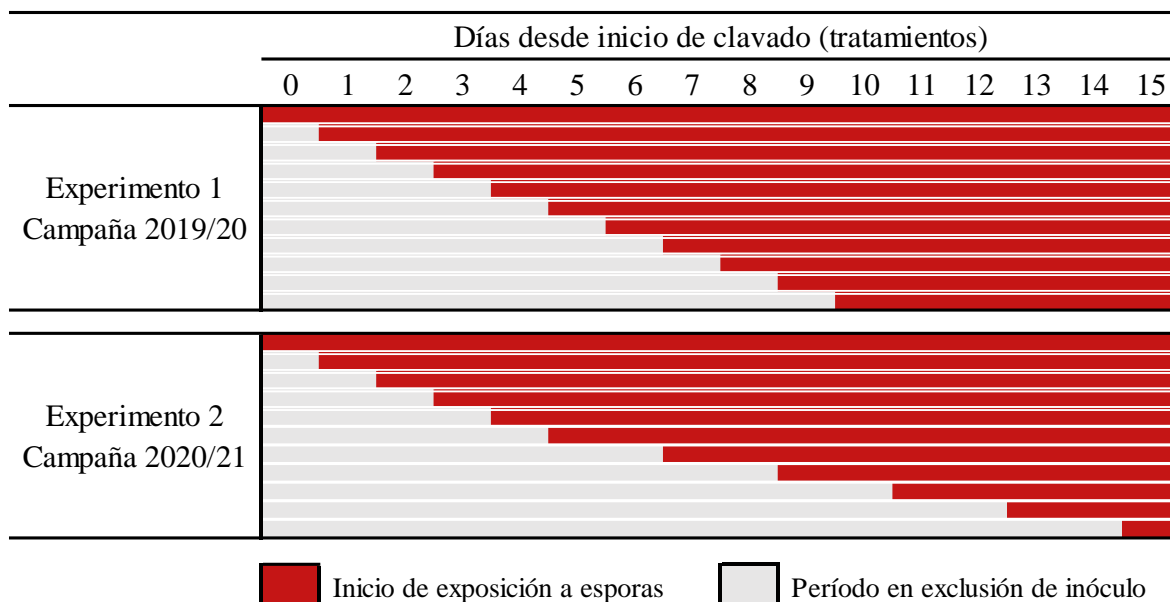




**Figura 4.2.** **A:** Clavos de maní previos al contacto con el suelo, y clavos excluidos dentro de tubos con arena sin contacto con el inóculo de *T. frezii*. **B:** Diferencias en el desarrollo de los clavos de maní al momento de ser colocados en suelo inoculado con teliosporas. El número indica el día en que se sometió el clavo al inóculo.

El principio de exclusión (Whetzel 1929) fue implementado, para impedir el contacto de las teliosporas presentes en el suelo con los clavos (órgano susceptible) e impedir la infección. Los clavos fueron identificados y colocados en un tubo Eppendorf de 2 ml con arena fina estéril (**Figura 4.2**). Cada clavo mantuvo su identificación según el tiempo dentro del tubo en exclusión, para luego ser colocado en suelo infestado con teliosporas de *T. frezii*. Los tratamientos se determinaron según el día en que el clavo fue expuesto al inóculo. Se colectaron un número  $n$  de clavos, considerando: día 0: sin ninguna restricción e ingreso normal en suelo; día  $n$ :  $n$  días que el clavo estuvo en condición de exclusión y posterior colocación en suelo inoculado. Para el primer año de experimento fueron: 0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9 y 10 días; mientras que para el segundo año de experimento fueron: 0; 1; 2; 3; 4; 5; 7; 9; 11; 13 y 15 días (**Figura 4.3**).

Una vez que los clavos fueron depositados en el suelo, estos continuaron su normal crecimiento y desarrollo hasta el momento de cosecha, aproximadamente 60 días después de finalizados los tratamientos (vainas estado R7 - R8; Boote 1982). Las vainas fueron evaluadas individualmente, determinando el grado de severidad del carbón (escala 0-4) (Ver Capítulo 1).



**Figura 4.3.** Esquema del momento de exposición de los clavos a las teliosporas de *T. frezii* según el día desde el inicio del clavado, determinando los tratamientos para cada uno de los experimentos.

### Análisis de datos

Cada experimento fue considerado como individual. Los tratamientos fueron analizados como binarios, según la condición de cada vaina analizada (1 = con síntoma, 0 = sin síntoma) y se analizaron mediante modelos lineales generalizados (GLM).

Se determinó la proporción de cada grado de severidad en cada tratamiento (número de vainas de cada severidad sobre el total de vainas evaluadas), se calculó la incidencia de la enfermedad en cada tratamiento (porcentaje de vainas con síntomas sobre el total de vainas evaluadas) y la incidencia de cada grado de severidad por tratamiento.

Los tratamientos fueron clasificados en función del momento del contacto del clavo con el inóculo de *T. frezii* como: inoculación temprana (día  $\leq 5$ ), o inoculación tardía (día  $\geq 6$ ). Se compararon estas clasificaciones mediante ANAVA y test de comparación de medias Tukey ( $P < 0,05$ ).

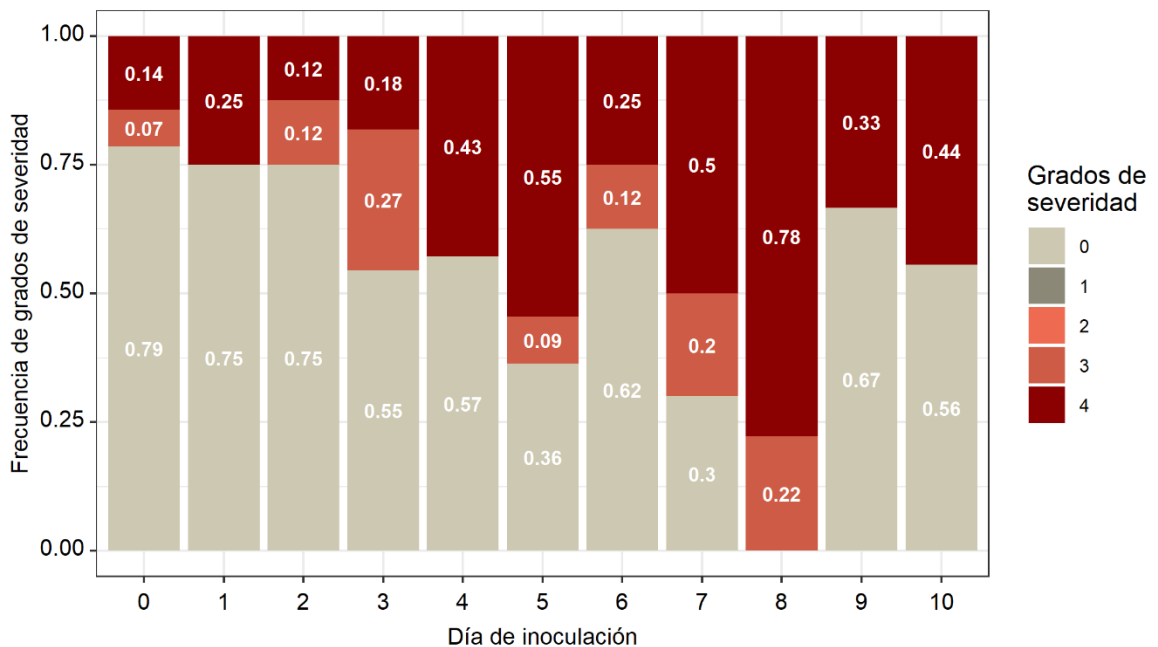
Se realizaron análisis de correlación de Pearson entre el momento de inoculación (total, temprano y tardío) y las incidencias de cada grado de severidad.

## RESULTADOS

Durante el primer ensayo (EXP1) se seleccionaron 13 clavos por cada tratamiento. Sin embargo, el aborto y nulo desarrollo de frutos se produjo de manera recurrente, disminuyendo el número de vainas logradas y evaluadas al final del ciclo del cultivo en todos los tratamientos (**Tabla 4.1**).

**Tabla 4.1.** Número de vainas según grado de severidad de carbón del maní en función del día que se expuso el clavo al inóculo en el experimento 1.

Día de exposición al inóculo	N° vainas	Vainas sintomáticas	Grado de severidad				
			0	1	2	3	4
0	14	3	11	0	0	1	2
1	8	2	6	0	0	0	2
2	8	2	6	0	0	1	1
3	11	5	6	0	0	3	2
4	7	3	4	0	0	0	3
5	11	7	4	0	0	1	6
6	8	3	5	0	0	1	2
7	10	7	3	0	0	2	5
8	9	9	0	0	0	2	7
9	6	2	4	0	0	0	2
10	9	4	5	0	0	0	4



**Figura 4.4.** Proporciones acumuladas de los grados de severidad del carbón del maní, según el día que se expuso el clavo al inóculo de *T. frezii*, para el experimento 1.

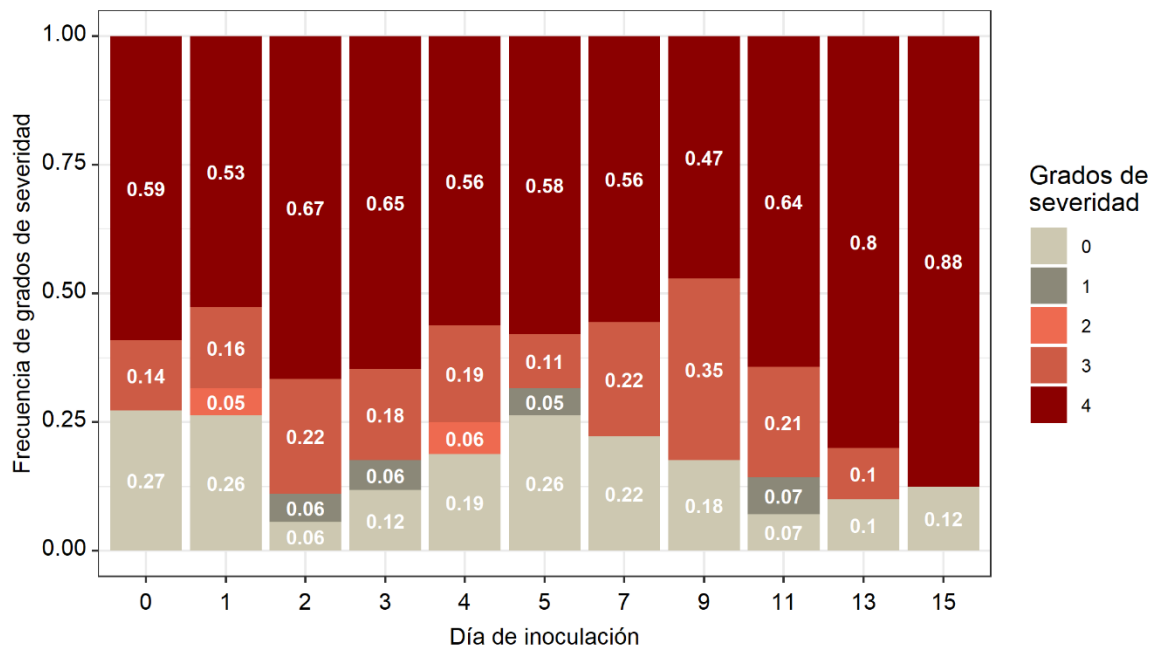
En este ensayo, un total de 101 vainas fueron evaluadas, de las cuales 47 vainas lograron infección, que correspondieron 22 a inoculaciones tempranas y 25 a inoculaciones tardías (37 y 59 %, respectivamente). Se registró infección en todos los tratamientos sin diferencias estadísticas entre el día de exposición del clavo al inóculo ( $P = 0,515$ ). Tampoco fueron observadas diferencias entre inoculación temprana o tardía ( $P = 0,175$ ).

Para el EXP2, un total de 20 clavos por cada tratamiento fueron seleccionados, logrando un correcto desarrollo y evaluación de carbón en la mayoría de los casos. Sin embargo, en los tratamientos de 11, 13 y 15 días, una disminución en los frutos finales logrados fue observada, logrando un total de 14, 10 y 8 clavos como  $n$  final (**Tabla 4.2**).

**Tabla 4.2.** Número de vainas según grado de severidad de carbón del maní en función del día que se expuso el clavo al inóculo en el experimento 2.

Día de exposición al inóculo	N° vainas	Vainas sintomáticas	Grado de severidad				
			0	1	2	3	4
0	22	16	6	0	0	3	13
1	19	14	5	0	1	3	10
2	18	17	1	1	0	4	12
3	17	15	2	1	0	3	11
4	16	13	3	0	1	3	9
5	19	14	5	1	0	2	11
7	18	14	4	0	0	4	10
9	17	14	3	0	0	6	8
11	14	13	1	1	0	3	9
13	10	9	1	0	0	1	8
15	8	7	1	0	0	0	7

Un total de 178 vainas fueron evaluadas para el EXP2, donde 111 vainas correspondían a las inoculaciones tempranas, con 89 vainas enfermas (80 %), mientras que 67 vainas se evaluaron para la inoculación tardía, con 57 vainas carbonosas (85 %). La enfermedad fue observada en todos los días de exposición del clavo al inóculo, sin diferencias entre los tratamientos ( $P = 0,283$ ), tampoco se observó diferencia entre inoculaciones tempranas o tardías ( $P = 0,760$ ).



**Figura 4.5.** Proporciones acumuladas de los grados de severidad del carbón del maní, según el día que se expuso el clavo al inóculo de *T. frezii*, para el experimento 2.

El período de evaluación fue de 10 días en el EXP1 y 15 días para el EXP2, observando que aún en los días 10 y 15 de sometida al inóculo, se lograron 44 y 88 % de incidencia para cada experimento respectivamente, donde la totalidad de las vainas evaluadas correspondieron a grado 4 de severidad (**Figura 4.4, Figura 4.5**).

Para el EXP1, los primeros tres días (0, 1 y 2) registraron las menores incidencias (21, 25 y 24 %, respectivamente), mientras que la mayor infección se logró en el día 8, donde la totalidad de las vainas evaluadas presentaron infección de carbón (n = 9). No se observaron infecciones de grado de severidad 1 y 2, mientras que el 46,5 % fueron vainas de grado 3 (10,9 %; n = 11) y grado 4 (35,6 %; n = 36). El 53,5 % de las vainas no registró enfermedad (n = 54).

Para el EXP2, en el 18 % de las vainas (n = 32) no se observó infección, mientras que el 78,6% fueron vainas severamente afectadas, donde el 18 % fue grado 3 (n = 32) y el 60 % grado 4 (n = 108), mientras que el 2 y 1 % fueron de grado 1 y 2 respectivamente (n = 4; n = 2).

No se observaron correlaciones entre la severidad de la enfermedad y el día de exposición del clavo al inóculo para ninguno de los experimentos (**Tabla S 4**).

## DISCUSIÓN

*Thecaphora frezii* es un patógeno de gran agresividad que infecta durante la etapa de clavado (estado R2) como lo afirman diferentes autores (Marinelli et al., 2008; Astiz Gasso et al., 2010). Los resultados de este trabajo indican que puede haber infección de carbón durante los primeros 15 días desde que el clavo ingresa al suelo, sin diferencias significativas en la expresión de la enfermedad (incidencia y severidad) asociadas al momento de exposición del clavo al inóculo de *T. frezii*, detectando infecciones tanto en el día 0 como en el día 15.

Diversos métodos de patogenicidad pueden ser evaluados para diversas enfermedades y patógenos de suelo (Menzies 1963; Fiers et al., 2012). Sin embargo para el carbón del maní, al ser un patógeno biotrófico (Marinelli et al., 2008; Astiz Gasso et al., 2010; Arias et al., 2021), es necesario el hospedante (*Arachis hypogaea*) y el órgano susceptible (clavo) para realizar estudios de infección. Sumado a esto, la sintomatología será expresada en la vaina cuando la semilla está formada (R6, R7 y R8), por lo que deben transcurrir aproximadamente 60 días desde el momento de la inoculación/infección (Rago et al., 2017). Por estos motivos, es un patosistema de alta complejidad para evaluaciones de pruebas de patogenicidad. Fiers et al., (2012) indican que además, las enfermedades producidas por patógenos de suelo son difíciles de estudiar, el suelo es un entorno complejo en el que ocurren numerosas interacciones y donde muchos de los estudios clásicos de patogenicidad no son fáciles. En papa por ejemplo, para evaluar el potencial de infección de los suelos de bacterias de pudrición blanda (*Pectobacterium carotovorum*), los experimentos muchas veces no son exitosos por el grado de contaminación con otros patógenos comunes de suelo (*Fusarium caeruleum*, *F. solani*, *F. radícolica*) (Menzies 1963).

La germinación de las teliosporas de *T. frezii* presentes en el suelo se produciría cuando son estimuladas por extractos que libera el clavo (Marinelli et al., 2008). Sin embargo, se ha logrado la germinación de estas teliosporas en placas de Petri *in vitro* en laboratorio aunque es un proceso dificultoso, tal como lo señalan diferentes autores (Astiz Gasso y Wojszko 2011; Astiz Gassó y Marinelli 2013; Avanzini y Pérez 2015). De igual manera, colonias de *T. frezii* fueron generadas bajo diferentes medios de cultivo, enriquecidos o artificiales, confeccionados a base de granos, clavos de maní, PDA, etc. (Astiz Gasso y Wojszko 2011; Astiz Gassó y Marinelli 2013; Avanzini y Pérez 2015;

Paredes et al., 2021a). Algunos resultados demuestran que la germinación de teliosporas *in vitro* aumentó al agregar extracto de clavo al medio de cultivo, y fue mayor cuando se utilizaron extractos provenientes de plantas creciendo en suelos con *T. frezii* (Arias et al., 2021). Esto podría indicar que la planta está mediando en la infección o en la germinación de teliosporas. Lo mismo fue observado por Arias et al., (2021), donde sugiere dilucidar la bioquímica involucrada en este fenómeno, lo que a su vez podría conducir al desarrollo de nuevas estrategias para controlar el carbón, como la selección de genotipos de maní que produzcan cantidades menores de sustancias inductoras de la germinación, o la aplicación de sustancias exógenas que induzcan la germinación de las teliosporas previos al cultivo de maní. Así, esta estrategia buscaría reducir el inóculo, como consecuencia de la germinación de las esporas y posterior muerte debido a la ausencia de un cultivo susceptible.

Según resultados de Nieto (2015), en inoculaciones controladas, el carbón no fue observado cuando la inoculación fue en estadios de vainas R4 (vainas con tamaño final) y posteriores (R5 y R6, inicio de formación de semilla y semilla inmadura de tamaño completo dentro de la vaina, respectivamente). En nuestros resultados, no fue realizada una inoculación en estos estadios. Además, Nieto en su estudio, observó que la severidad del carbón era mayor cuando la inoculación fue producida en el estadio R2 (clavos en inicio de contacto con el suelo), sin embargo, observó una marcada disminución de la severidad a medida que las inoculaciones se realizaban en un avance en el desarrollo de los frutos. La severidad disminuyó en inoculaciones en R3a (clavo de doble del diámetro en su extremo) y fue la menor en R3b (clavo de doble diámetro y longitud). Durante el avance del desarrollo de los frutos, los tejidos de las vainas adquieren resistencia a las infecciones por *T. frezii*, mencionado como una de las formas de resistencia a patógenos (March et al., 2010). En los ensayos de este capítulo, se buscó observar diferencias entre la severidad de la enfermedad en un período específico de infección de gran susceptibilidad. Sin embargo, las posibles infecciones en otros estadios de desarrollo del clavo no han sido incluidas en este estudio. Esta información podría ser útil para complementar el conocimiento en los momentos de infección de *T. frezii*.

El proceso de infección para el carbón del maní aún no está completamente estudiado. En este trabajo, los clavos fueron expuestos al inóculo en diferentes momentos, logrando la misma intensidad de la enfermedad en todo el período estudiado. Sin embargo, no está claro si todas las teliosporas pueden germinar y producir micelio dicariótico infectivo

(Arias et al., 2021). En ambas repeticiones de los ensayos, vainas sin enfermedad fueron encontradas, siendo que los experimentos estuvieron montados con elevadas cantidades de inóculo ( $>10.000$  esp  $g^{-1}$  de suelo). La exposición de los clavos al inóculo no garantiza la infección. Actualmente no se conoce el motivo por el cual no se observa la totalidad de las vainas infectadas (100 %) en suelos con elevadas densidades de inóculo ( $> 15.000$  esp  $g^{-1}$  de suelo) (Oddino et al., 2010; Paredes et al., 2019). Las bajas tasas de germinación que se encuentran en los cultivos *in vitro* podrían deberse, en parte, a las altas proporciones de esporas inmaduras o no viables presentes de forma natural (Figueroa et al., 2021; Arias et al., 2021). Según Arias et al., (2021), debe considerarse como prioridad de investigación una mejor caracterización del estado fisiológico de las teliosporas dentro de una población, en cierta medida porque por ejemplo, puede promover a identificar o seleccionar moléculas de fungicidas con actividad específica, teniendo en cuenta la baja eficacia que presentan los fungicidas ante *T. frezii* (Rago et al., 2017; Camiletti et al., 2021; Paredes et al., 2021a).

Como lo indican los resultados de este trabajo, no se encontraron correlaciones entre los grados de severidad del carbón del maní y el momento de exposición al inóculo de *T. frezii* durante los primeros 15 días desde el clavado. Un bajo número de vainas de baja severidad (grado 1 y 2) fue observado en los experimentos ( $n = 6$ ). La agresividad del carbón en las infecciones es naturalmente alta, donde más del 80 % de las vainas enfermas son grado 3 o 4 (Paredes et al., 2021b).

La infección puede variar según la cantidad de inóculo de *T. frezii* en el suelo (Paredes et al., 2019). Para los experimentos presentados en este trabajo, fueron observadas diferencias en las infecciones para ambas repeticiones, y aunque fueron realizados con diferentes sustratos, tuvieron el mismo método de inoculación permitiendo que no variara la cantidad de inóculo. Los diferentes valores de incidencia de la enfermedad observada pueden estar ligados al tipo de suelo utilizado en cada experimento. En el EXP1, el sustrato utilizado fue provisto por las instalaciones del INTA-IPAVE, que contenía mayor cantidad de materia orgánica (~30 %) que el sustrato del EXP2, obtenido de un campo experimental (General Deheza, Córdoba). El contenido de materia orgánica del suelo, posibilita un incremento del contenido de microorganismos, que causan un efecto positivo relacionado a la microbiota y la fungistásis del suelo, actuando sobre los patógenos y en las enfermedades (Chellemi et al., 2016). Para el carbón del maní, se observó que hay una correlación significativa entre la intensidad de la enfermedad y el carbono orgánico del suelo (Serri et al., 2018).



Muchos patógenos de suelo afectan a la raíz de las plantas, y para ellos, la rizósfera es el escenario en el que los propágulos de los patógenos pueden germinar. La rizósfera es un área con intensa actividad de procesos biológicos, muchos de ellos antagónicos, que pueden tener cierto efecto de control en los patógenos (Katan 2017). Esta misma observación puede ser aplicada al patosistema *Thecaphora*-maní, donde las áreas alrededor del clavo y las relaciones microbianas en ese ambiente podrían tener ciertos efectos en las interacciones con el patógeno. En los patógenos de suelo, es importante entender las complejas interacciones entre el suelo, los patógenos y la planta (Fiers et al., 2012). Los mecanismos de fungistasis y producción de exudados deben continuar siendo el foco de futuros estudios, ya que juegan un papel importante en la ecología de los patógenos de suelo y sus antagonistas, lo que puede proporcionar herramientas adicionales para el manejo de estos patógenos (Katan 2017)

Una de las estrategias de control del carbón del maní, es la utilización de fungicidas (Rago et al., 2017). Sin embargo, la baja eficiencia de las pulverizaciones registrada para esta enfermedad (Paredes 2017) sugiere que las características propias de este patosistema condicionan la efectividad de los mismos. Actualmente no hay un momento establecido como óptimo para la aplicación de fungicidas, aunque diversos estudios indican que el momento oportuno de la aplicación estaría dirigida a 7-10 días después de R2, repitiendo la aplicación 10-15 días después (Cazón et al., 2013; Paredes et al., 2015a, 2015b, 2021a; Paredes 2017). La persistencia o la degradación de los fungicidas en el suelo, pueden ser un factor clave en el control de *T. frezii*. Se considera persistencia a la capacidad de un plaguicida de conservar sus características físicas, químicas y funcionales, durante un período limitado de tiempo luego de ser aplicado (Aparicio et al., 2015). Como ya se discutió con anterioridad, el hecho de que las infecciones se mantengan durante un periodo de al menos 15 días, la persistencia de los ingredientes activos fungicidas cobran importancia dado que, aplicados al suelo, podrían perder efecto con el transcurso de los días, desprotegiendo a los clavos de las infecciones de *T. frezii* por las diferencias entre el período de protección y la ventana de infección. En resultados preliminares se observó que las características de los fungicidas que mejor explican el control del carbón del maní fueron la permanencia (que representa el tiempo que tarda el fungicida en alcanzar la mitad de la concentración inicial; “DT50”) y la adsorción (unión del plaguicida a las partículas de suelo; normalizados en base al contenido de materia orgánica del suelo “Kco” y “Kfco”) según

cada ingrediente activo. Mientras mayor permanencia y menor adsorción, mayor eficiencia de control de la enfermedad (Paredes 2017). Por otra parte, fungicidas experimentales aplicados en estado sólido para el control del carbón del maní, obtuvieron buenas eficiencias de control de la enfermedad comparadas con las aplicaciones por pulverización (Paredes et al., 2014). Esto podría deberse a la permanencia del fungicida en el suelo, incrementando el tiempo en el que genera un ambiente fungitóxico para el patógeno. De igual manera, las aplicaciones de fungicidas nanoformulados presentan mayores eficiencias de control que la formulación convencional (Camiletti et al., 2021). La nanoformulación podría tener un efecto sobre la solubilidad y el comportamiento del fungicida en el suelo. La combinación entre la información del momento oportuno de aplicación y las mejores tecnologías y prácticas, eventualmente pueden conducir a una mayor eficiencia de control del carbón.

El análisis aquí planteado tuvo como objetivo observar si el momento de contacto del clavo con el inóculo (promoviendo la infección) diferenciaba la severidad de la enfermedad. Sin embargo, no han sido observadas diferencias estadísticas entre los tratamientos planteados, confirmando la gran capacidad que tiene *T. frezii* de lograr infecciones bajo diferentes momentos y circunstancias. Esto nos posiciona en una constante búsqueda de mejorar en el conocimiento del proceso infeccioso. Con esta información se podrían proponer diferentes estrategias en el control de la enfermedad, tales como escape o exclusión, protección en momentos específicos, provocar condiciones hostiles para el patógeno, entre otras.

## CONCLUSIONES

- En los primeros 15 días desde que el clavo ingresa al suelo puede haber infección, independientemente del momento del contacto del inóculo de *T. frezii* con los clavos (detectando infecciones tanto en el día 0 como en el día 15).
- No se observaron diferencias significativas en la expresión de la enfermedad (incidencia y severidad) asociadas al momento de exposición del clavo al inóculo de *T. frezii*.

## 4. INFECCIÓN Y COLONIZACIÓN DE *Thecaphora frezii* EN *Arachis hypogaea*

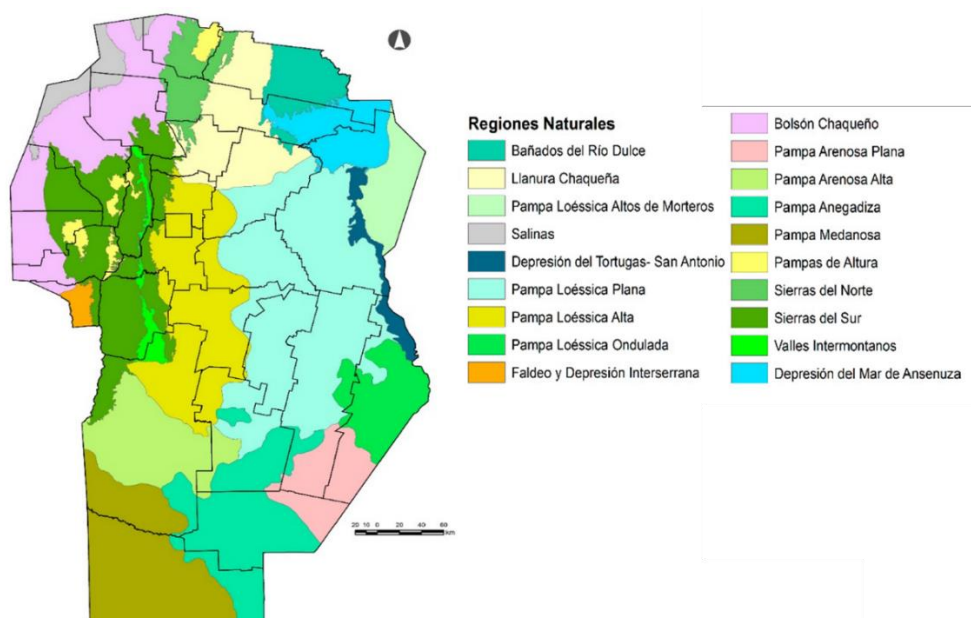
### 4.2 CONDICIONES PREDISPONENTES

“Explorar las condiciones de humedad y temperatura del suelo que favorezcan el proceso de infección de *T. frezii* sobre *A. hypogaea*”

Parte de los resultados de este capítulo están en proceso de publicación

### INTRODUCCIÓN

El maní es una oleaginosa que se cultiva en un amplio rango de ambientes en la provincia de Córdoba. Los suelos y el clima de cada región generan condiciones agrometeorológicas propicias para el desarrollo del cultivo. Dentro de la provincia de Córdoba se encuentran ambientes agroclimáticamente diferenciados (**Figura 4.6**) (Secretaría de ambiente 2014). Las condiciones edáficas y agroecológicas de cada región no solo pueden influenciar el desarrollo del cultivo, sino también generar efectos sobre la expresión de enfermedades, entre ellas el carbón del maní causado por *Thecaphora frezii*.



**Figura 4.6.** Regiones naturales de la provincia de Córdoba (Secretaría de ambiente 2014).

El área manisera está ubicada principalmente en la región centro-sur de la provincia, principalmente los departamentos de General Roca, Río Cuarto, Juárez Celman y Presidente Roque Sáenz Peña. Actualmente, los principales cultivares de maní sembrados son susceptibles al carbón (Paredes et al., 2021b), siendo el cultivar Granoleico, de alta productividad y de gran adaptación a diferentes condiciones agroecológicas, por lo que es el cultivar con mayor superficie sembrada. Sin embargo, el mismo es altamente susceptible al carbón, por lo que ha contribuido a la multiplicación y propagación de las teliosporas de *T. frezii* en toda el área manisera (Cignetti et al., 2010; Rago et al., 2017; Cazón et al., 2018).

Para que se produzca enfermedad es necesario que haya un patógeno virulento, un hospedante susceptible y condiciones ambientales favorables (Agrios, 2005). Para este patosistema en particular, el patógeno *T. frezii* se encuentra en el suelo como teliosporas de resistencia en estado latente, esperando el momento de susceptibilidad del hospedante para colonizar y producir la infección. El cultivo de maní (*Arachis hypogaea* L.) es el único hospedante susceptible a la colonización de *T. frezii*, donde el proceso de infección ocurre durante el momento de clavado (Marinelli et al., 2008).

El maní es una planta indeterminada en su desarrollo reproductivo (Smith 1950). Aproximadamente 30 a 50 días después de la emergencia (DDE), las plantas de maní comienzan a producir flores. El número de flores seguirá aumentando hasta que la planta alcance el pico de floración alrededor de 60 a 90 DDE, luego el desarrollo floral diario comienza a disminuir (Boote 1982; Vara Prasad et al., 1999a; Giayetto et al., 2017). Esto genera como resultado un proceso de clavado escalonado en el tiempo. Para la provincia de Córdoba, las vainas que logran la maduración adecuada y serán cosechadas, tienen un período de clavado aproximado que inicia en los últimos días de diciembre hasta los últimos días de febrero. Los clavos generados en este período pueden infectarse por carbón, observando los síntomas en el momento de la cosecha. Sin embargo, factores ambientales como precipitaciones y temperatura, pueden condicionar la productividad, fenología e infección (Fiers et al., 2012; Katan 2017).

Como el proceso de infección se produce en el suelo, es importante entender las complejas interacciones entre el suelo, los patógenos y la planta (Fiers et al., 2012). Bajo este supuesto, las condiciones edáficas y su relación con el clima podrían generar diferentes situaciones que influyan en los procesos infectivos de *T. frezii*. Dentro de las variables

climáticas, las condiciones de humedad y temperatura son las más importantes (Vara Prasad et al., 1999b). Cuantificar las lluvias es un método directo de determinar la cantidad de agua que ingresa en el suelo. Adicionalmente, las sequías estacionales generan condiciones de estrés en el cultivo por lo que su rendimiento se ve reducido. Dependiendo de la frecuencia e intensidad del período de limitación de agua, el estrés también podría influir en la naturaleza e intensidad de las enfermedades (Kambiranda et al., 2011). Este efecto específico puede ser negativo (aumento de la susceptibilidad) o positivo (aumento de la resistencia/tolerancia) según el estrés y el patógeno en estudio. En registros de carbón en relevamientos zonales, se observó que años con mayores precipitaciones la presencia de carbón era menor, mientras que años más secos los registros de carbón fueron más elevados (Paredes et al., 2021b). Sin embargo, no hay ningún estudio específico que aborde el efecto de la sequía en la expresión de la enfermedad.

Tal como sucede a nivel mundial, donde el cultivo de maní frecuentemente está expuesto a sequías estacionales y altas temperaturas (ya que las lluvias pueden ser irregulares e insuficientes; Wright y Rao 1994; Kambiranda et al., 2011), la producción de maní en Argentina está expuesta a situaciones similares, donde el cultivo generalmente es producido bajo condiciones de secano. Teniendo en cuenta que el estrés por sequía podría aumentar la susceptibilidad al carbón en la región, y que esta enfermedad tiene un alto impacto en la producción, demostrar el efecto de las condiciones de humedad y temperatura en la expresión de la enfermedad es fundamental para el desarrollo de correctas estrategias de manejo. Por esta razón, se planteó como objetivo explorar las condiciones de humedad y temperatura del suelo que favorezcan el proceso de infección.

## 4.2.1 EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES DE HUMEDAD EN LA INFECCIÓN

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Ensayo en condiciones controladas

El ensayo fue realizado en invernadero, en las instalaciones del INTA-CIAP-IPAVE. Una maceta única (4 L; 25 cm de diámetro y 15 de alto) fue la unidad experimental. Se sembraron semillas de maní cultivar Granoleico en plantineras y se trasplantaron en estado de plántula (10 DDE) a cada unidad experimental, para lograr una planta por maceta. Las plantas se mantuvieron en ambiente controlado ( $24 \pm 4$  °C), sin restricciones hídricas durante el inicio del ensayo, libre de plagas y control de malezas en forma manual.

Cada unidad experimental fue inoculada con una suspensión de teliosporas de *T. frezii* (obtenida del área experimental de General Deheza del año anterior al ensayo), agregando 0,5 g de teliosporas en solución con 200 cm<sup>3</sup> de agua, para lograr una concentración de 10.000 teliosporas g<sup>-1</sup> de suelo, cantidad de teliosporas con potencialidad de lograr incidencias superiores a 70 % (Paredes et al., 2021a).

Una mezcla homogénea estéril fue utilizada como sustrato (proporción de tierra y arena 1:1 v/v) previamente secada en estufa a 105 °C por 48 horas para eliminar la totalidad del agua retenida. El contenido de agua del suelo se determinó mediante el método gravimétrico (Shukla et al., 2014). Para esto, las macetas se regaron lentamente hasta saturación (agregando aproximadamente 1 litro de agua), y se dejó drenar aproximadamente 15 min. Una vez que completó el drenaje de agua, se registró el peso de cada maceta. Este valor fue considerado como capacidad de campo, la cantidad máxima de agua capaz de ser retenido por el sustrato y representó el 100 % del contenido hídrico de suelo (CHS). Con los pesos de cada maceta en suelo totalmente seco y a saturación, fue calculada la cantidad de agua necesaria para lograr en cada maceta las condiciones hídricas de suelo necesarias para cada tratamiento.

Se realizaron dos ensayos: campaña 2016-17 (20, 30, 40, 60 y 80 % CHS), y 2018-19 (30, 40, 60 y 80 % CHS), de aquí en adelante referidos como 2017 y 2019 (año de

cosecha). El diseño experimental consistió en tratamientos dispuestos completamente al azar con diez repeticiones (2017) y entre seis y doce repeticiones (2019).

Las plantas se mantuvieron sin restricciones hídricas hasta que todas las macetas tuvieran al menos una flor. En este momento fue suspendido el riego y el contenido hídrico de cada maceta se fue reduciendo progresivamente hasta lograr el CHS según cada tratamiento (agregando agua suplementaria cuando fue necesario). Se mantuvo cada maceta en la humedad deseada durante un mes. El contenido gravimétrico de agua se controló diariamente pesando cada maceta, agregando el agua perdida para mantener el peso (según la CHS) de cada tratamiento (**Figura 4.7**). Después de 30 días de condiciones de agua limitada, se restituyó el riego a todas las macetas y se mantuvieron sin restricciones hídricas hasta finalizar el experimento (~ 60 días más).

Todas las vainas maduras (R7 o R8; Boote 1982) producidas durante el período de agua limitada, fueron recolectadas y evaluadas según la severidad de carbón, determinando la incidencia, las vainas severamente afectadas (SDP) y el índice de severidad del carbón (DSI) (Ver Capítulo 1). Los clavos y flores producidos fuera del período de restricción hídrica fueron removidos o no se tuvieron en cuenta para el análisis.



**Figura 4.7.** Pesaje de macetas para determinar la condición hídrica de suelo (CHS) de cada tratamiento (izquierda): Aleatorización de macetas en invernadero (derecha).

## Experiencia a campo

Para este análisis observacional, se establecieron dos zonas de estudio ubicadas en la principal área de cultivo de maní: módulo experimental de AGD, en General Deheza, Córdoba ( $- 32^{\circ} 45' 20.53''$  S,  $- 63^{\circ} 46' 56.5''$  O), y área experimental 'El Carmen', en General Cabrera, Córdoba ( $- 32^{\circ} 49' 41.32''$  S,  $- 63^{\circ} 23' 24''$  O), de ahora en adelante "General Deheza" y "General Cabrera", respectivamente. Las dos zonas de estudio se seleccionaron por su alta presión de inóculo de *T. frezii*, siendo de  $\sim 4.500$  para General Deheza y  $\sim 10.000$  teliosporas  $g^{-1}$  de suelo para General Cabrera. Estas densidades de inóculo son mayores a las registradas en campos altamente infestados ( $> 40\%$  incidencia) del área manisera ( $\sim 1.150$  teliosporas  $g^{-1}$  de suelo) (Paredes et al., 2019).

Se registraron los valores de precipitación diaria en cada sitio utilizando estaciones meteorológicas locales. Los períodos de acumulación de lluvias mensuales y quincenales se clasificaron de diciembre a marzo. Para General Deheza se registraron los valores de enfermedad y de precipitación las campañas 2014-15 hasta la 2018-19 (de aquí en adelante 2015 a 2018, según el año de cosecha), mientras que para General Cabrera se registraron las campañas 2015-16 hasta la 2019-20 (de aquí en adelante 2016 a 2019, según el año de cosecha).

En ambos sitios fue utilizado el cultivar de maní Granoleico, sembrado a 15-18 semillas  $m^{-1}$  con distancia entre surcos de 0,7 m, la implantación fue durante el período normal de cultivo (20 de octubre al 15 de noviembre). Las áreas experimentales se mantuvieron sin malezas e insectos. El control de enfermedades foliares como viruela del maní (*Nothopassalora personata*) se realizó utilizando fungicida clorotalonil, fungicida sin actividad sobre *T. frezii* (Paredes et al., 2021a).

Para la cuantificación del carbón se tomaron muestras de parcelas testigos (sin tratamiento) de distintos experimentos en cada área experimental. Cada muestra consistía en todas las plantas producidas en 1  $m^2$ , al estado fenológico R8, donde todas las vainas en esa superficie fueron evaluadas. El número de muestras fue variable según el año y el sitio experimental. Se determinaron las variables: incidencia, vainas severamente afectadas (SDP), vainas grado 3 y grado 4, índice de severidad (DSI), vainas grado 1 y 2 (LDP) (Ver Capítulo 1).



## **Análisis estadísticos**

Para los experimentos en maceta análisis de comparación de medias de la variable DSI fueron realizados según test de Tukey ( $P < 0,05$ ). La variable DSI fue transformada como raíz cuadrada, comprobando normalidad y homocedasticidad a posteriori. Se observó un efecto año no significativo ( $P = 0,082$ ), de esta manera se combinaron los años de experimentos, realizando un test-F y comprobando que las varianzas entre años no tenían diferencias significativas ( $P = 0,062$ ).

Para los ensayos a campo, se realizaron análisis de comparación de medias de los parámetros de la enfermedad según test de Tukey ( $P < 0,05$ ) entre los años de cada sitio de estudio.

Con los datos de campo se realizaron análisis de correlación de Pearson con todas las variables de enfermedad en función de las precipitaciones acumuladas durante el momento de clavado (período de susceptibilidad), particionadas según la acumulación de las precipitaciones en fracciones de 15 días, 30 días y totales, utilizando las funciones del paquete 'corrplot' de R (Wei and Simko 2021).

Todos los datos se analizaron en R versión 4.0.5 (Team R Development Core 2018).

## RESULTADOS

### Ensayo en condiciones controladas

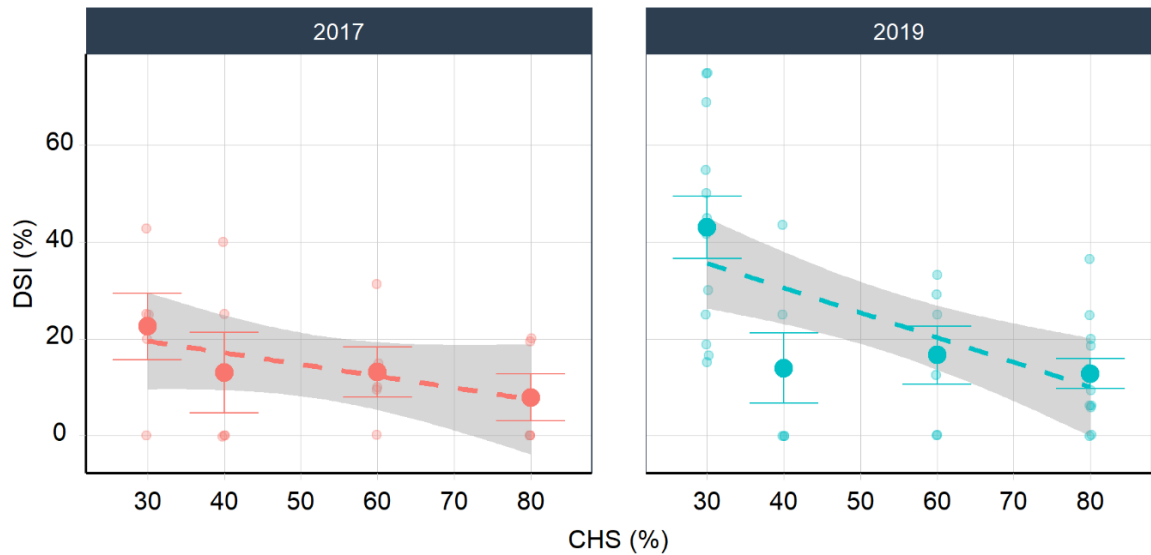
En el tratamiento con CHS 20 % no se observó producción de clavos o bien estos no lograron elongar y penetrar en el suelo. Durante el primer año de experimento (2017), este tratamiento de muy bajo contenido hídrico condicionó la producción de clavos, las plantas de maní se mantuvieron estables, pero con notable estrés, baja turgencia en hojas y sin desarrollo floral. Al no producir vainas, no se realizó evaluación de la enfermedad y fue eliminado de las repeticiones en los años posteriores (Tabla 4.3).

**Tabla 4.3.** Producción de vainas totales y enfermas por carbón del maní, y medidas resúmenes de la enfermedad como incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad (DSI) para los distintos tratamientos según la condición hídrica del suelo (CHS) en distintos años de experimentos en condiciones controladas.

Año	CHS (%)	n	Vainas totales	Vainas enfermas	Incidencia (%) <sup>a</sup>	SDP (%) <sup>a</sup>	DSI (%) <sup>a</sup>
2017	20	-	-	-	-	-	-
	30	5	27	7	24,2 ± 16,1	24,2 ± 16,1	22,6 ± 15,3
	40	5	28	4	13,7 ± 19,2	13,7 ± 19,2	13 ± 18,6
	60	5	38	6	16 ± 14	16 ± 14	13,1 ± 11,5
	80	5	30	3	8,44 ± 11,6	8,4 ± 11,6	7,89 ± 10,8
2019	30	12	64	31	48,9 ± 21,7	43,3 ± 22,7	43 ± 22,3
	40	6	24	4	15,8 ± 20,1	15,8 ± 20,1	14 ± 17,9
	60	6	24	5	20,8 ± 16,5	16,7 ± 18,3	16,67 ± 14,7
	80	12	104	17	15,9 ± 12,4	13,1 ± 12,1	12,8 ± 10,7

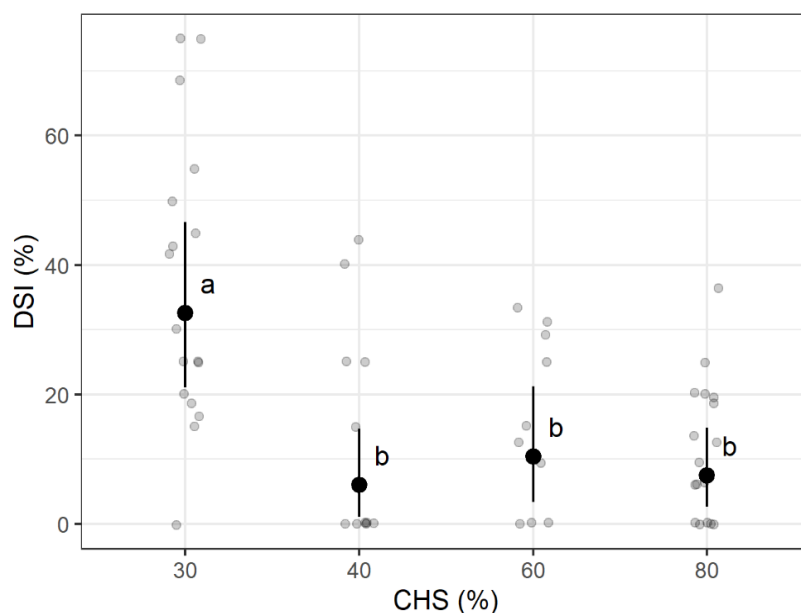
<sup>a</sup> Medias obtenidas de todas las observaciones para cada variable, según la condición hídrica del suelo (CHS) en distintos años de experimentos ± el desvío estándar.

Se observó una disminución del porcentaje de vainas severamente afectadas (SDP) a medida que la condición hídrica del suelo fue mayor, donde los tratamientos más secos presentaron los mayores niveles de enfermedad (**Figura 4.8**). Durante el año 2017 la enfermedad se presentó con valores medios de SDP en un rango de 8,4 a 24,2 % para 80 y 30 % CHS, respectivamente. En el año 2019 se registró una mayor intensidad del carbón con valores de SDP de 13,1 a 43,3% (80 y 30 % CHS, respectivamente).



**Figura 4.8.** Índice de severidad del carbón del maní (DSI %) en plantas con déficit hídrico controlado. Variaciones según diferentes condiciones hídricas de suelo (CHS) durante un mes en la etapa reproductiva. Los puntos sólidos representan las medias, los puntos claros representan cada observación y las barras muestran la media  $\pm$  la desviación estándar.

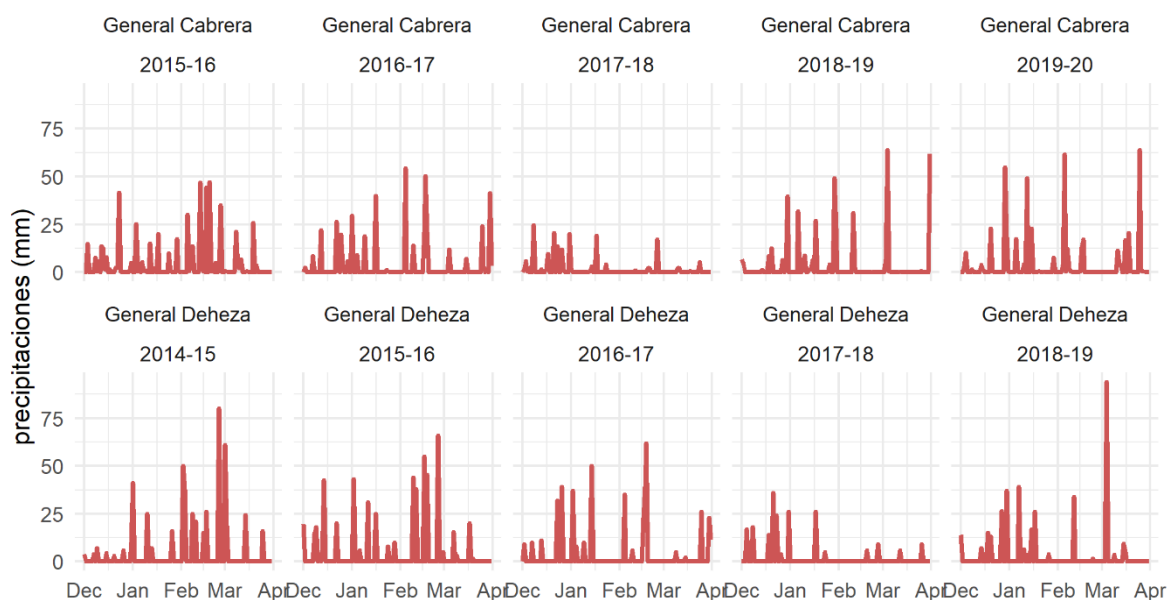
El tratamiento con CHS 30 % presentó diferencias estadísticamente significativas al resto de los tratamientos ( $P < 0,05$ ), registrando los mayores niveles de enfermedad (32,6 DSI %). El resto de los tratamientos no registró diferencia significativa entre ellos (**Figura 4.9**).



**Figura 4.9.** Diferencias entre el índice de severidad del carbón del maní (DSI), para las diferentes condiciones hídricas de suelo (CHS) evaluadas. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según test de comparación de medias Tukey ( $P < 0,05$ ). Los puntos grises representan observaciones, el punto negro las media con su límite de confianza.

## Ensayos a campo

Los registros de lluvias diarias (mm) de los dos sitios de estudio muestran variaciones en los diferentes años. Para la campaña 2017-18, las precipitaciones fueron menores a las normales, reflejando una fuerte condición de sequía en ambos sitios (**Figura 4.10, Tabla S 4.2**)



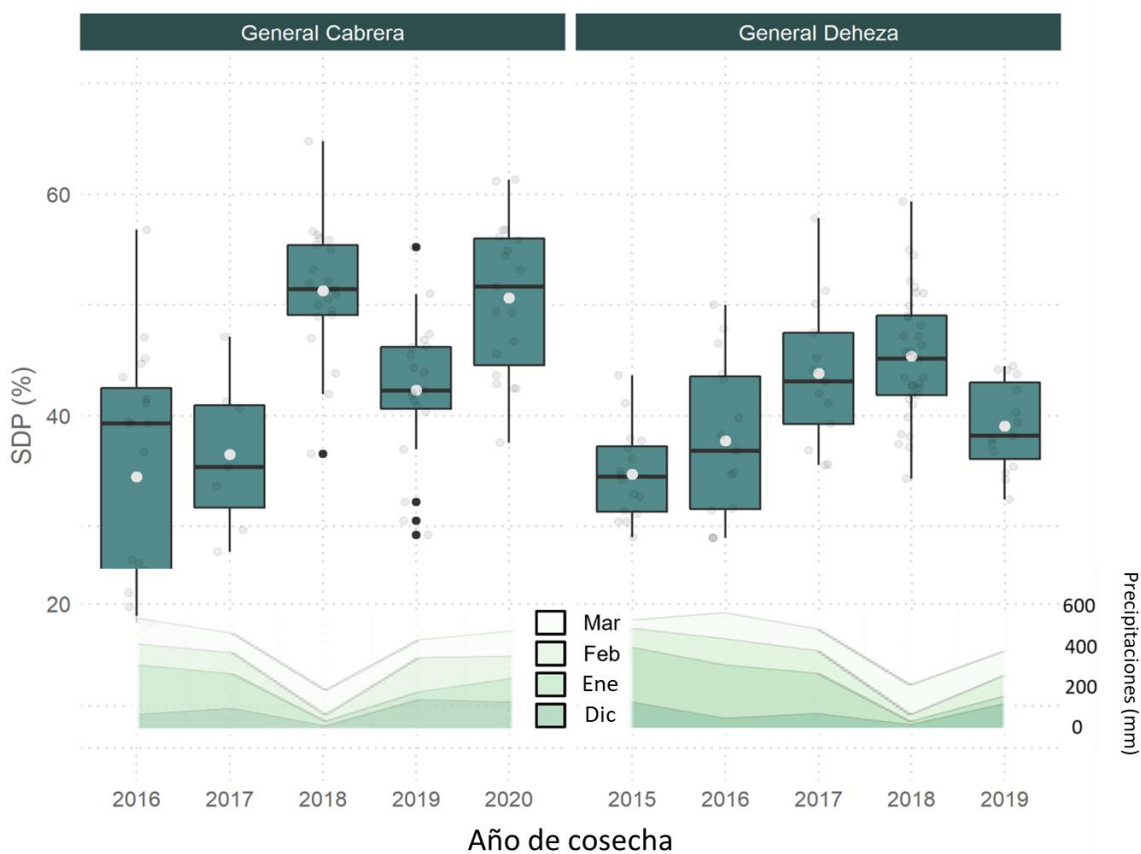
**Figura 4.10.** Precipitaciones diarias (mm) en registros de diciembre a marzo (período del cultivo en crecimiento y desarrollo) para los años de estudio en cada sitio de ensayo (General Cabrera y General Deheza).

**Tabla 4.4.** Precipitaciones (mm) mensuales y totales (diciembre a marzo), para los años de estudio en cada sitio de muestreo (General Cabrera y General Deheza).

Campaña	General Cabrera					General Deheza				
	Dic	Ene	Feb	Mar	Total	Dic	Ene	Feb	Mar	Total
2014-15	-	-	-	-	-	39	89	255	121	<b>503</b>
2015-16	119	99	231	64	<b>513</b>	122	123	249	45	<b>538</b>
2016-17	91	99	161	93	<b>444</b>	101	105	188	68	<b>462</b>
2017-18	116	29	22	10	<b>177</b>	139	31	15	15	<b>200</b>
2018-19	83	160	35	135	<b>413</b>	113	96	36	113	<b>357</b>
2019-20	118	103	111	122	<b>455</b>	-	-	-	-	-

Diferencias en las medias de la enfermedad fueron observadas en los diferentes años para los dos sitios de estudio (**Figura 4.11**,

**Tabla 4.5**). Los mayores niveles de enfermedad para ambos sitios fueron en el año 2018 con 51,3 y 45,37 SDP % para General Cabrera y General Deheza, respectivamente. Durante esa campaña se registraron las menores precipitaciones de diciembre a marzo (177 mm y 200 mm) para cada uno de los sitios respectivamente (**Tabla 4.4**).



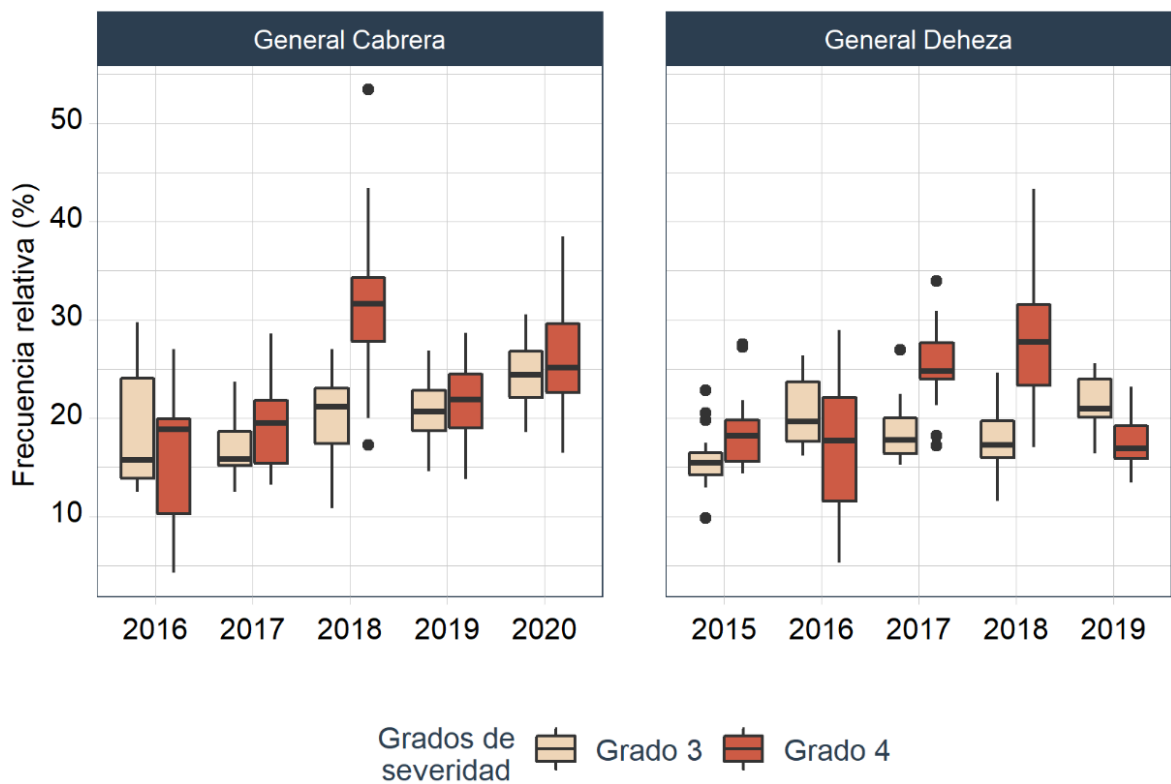
**Figura 4.11.** Diagrama de caja (Boxplot) que muestra la distribución del porcentaje de vainas severamente afectadas (SDP %) del carbón del maní para cada año en cada sitio (General Cabrera y General Deheza). La línea sólida en las cajas representa la mediana, los límites inferiores y superiores de las cajas representan los percentiles 25 y 75 de los datos respectivamente, los puntos grises son observaciones, los puntos blancos la media y los puntos negros representan valores atípicos (outliers). El área sombreada verde grafica las precipitaciones acumuladas en cada uno de los meses (diciembre a marzo) para cada año.

**Tabla 4.5.** Medidas resúmenes y comparaciones de las evaluaciones de la severidad del carbón del maní como incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad (DSI) del carbón del maní, para las diferentes parcelas muestreadas en el estudio (n) entre los años 2016 a 2020 (General Cabrera) y 2015 a 2019 (General Deheza).

Sitio	Año	n	Incidencia (%) <sup>a</sup>	SDP (%) <sup>a</sup>	DSI (%) <sup>a</sup>
General Cabrera	2016	19	46,68 ± 10,11 b	34,5 ± 11,41 c	35,93 ± 9,46 b
	2017	7	39,29 ± 5,74 b	36,5 ± 6,91 bc	33,62 ± 5,75 b
	2018	21	56,18 ± 5,49 a	51,3 ± 5,96 a	48,8 ± 5,78 a
	2019	19	45,78 ± 6,7 b	42,32 ± 6,59 b	38,81 ± 5,94 b
	2020	19	54,43 ± 6,98 a	50,64 ± 6,9 a	46,41 ± 6,36 a
General Deheza	2015	16	38,62 ± 4,74 b	34,72 ± 4,07 c	32,39 ± 3,94 c
	2016	15	44,58 ± 7,79 ab	37,72 ± 7,22 c	35,4 ± 6,97 bc
	2017	13	47,66 ± 7,72 a	43,81 ± 6,61 ab	40,82 ± 6,42 ab
	2018	33	49,15 ± 6,16 a	45,37 ± 5,76 a	42,65 ± 5,62 a
	2019	15	45,51 ± 3,99 a	39,04 ± 3,99 bc	36,26 ± 3,32 bc

<sup>a</sup> Medias obtenidas de todas las observaciones ± el desvío estándar, para cada variable según el año de evaluación y el sitio de estudio. Letras diferentes en las columnas y dentro del sitio indican diferencias estadísticamente significativas según test de comparación de medias Tukey (P < 0,05).

La proporción de cada grado de severidad de las vainas severamente afectadas (grado 3 y grado 4) fue analizada individualmente (**Tabla 4.6; Figura 4.12**). Se observó una mayor variabilidad interanual para los registros de vainas severidad grado 4 que las vainas de grado 3. Los valores máximos de severidad grado 4 se observaron en el año 2018, campaña con una sequía estacional marcada para ambos sitios de estudio.



**Figura 4.12.** Diagrama de caja (Boxplot) que muestra la distribución de los grados de severidad 3 y 4 (vainas severamente afectadas) para cada año en cada sitio de estudio (General Cabrera y General Deheza). La línea sólida en las cajas representa la mediana, los límites inferiores y superiores de las cajas representan los percentiles 25 y 75 de los datos respectivamente y los puntos negros representan valores atípicos (outliers).

**Tabla 4.6.** Medidas resúmenes y comparaciones de las evaluaciones de la severidad del carbón del maní como porcentaje de vainas de severidad grado 3 y severidad grado 4, para las diferentes parcelas muestreadas en el estudio (n) entre los años 2016 a 2020 (General Cabrera) y 2015 a 2019 (General Deheza).

Sitio	Año	n	Grado 3 (%) <sup>a</sup>		Grado 4 (%) <sup>a</sup>	
General Cabrera	2016	19	18,67 ± 5,74	b	15,83 ± 7,3	c
	2017	7	17,1 ± 3,65	b	19,4 ± 5,34	bc
	2018	21	19,76 ± 4,76	b	31,54 ± 8,12	a
	2019	19	20,97 ± 3,45	ab	21,35 ± 4,43	bc
	2020	19	24,5 ± 3,35	a	26,13 ± 5,5	ab
General Deheza	2015	16	15,9 ± 3,12	b	18,82 ± 3,95	b
	2016	15	20,58 ± 3,38	a	17,14 ± 7,61	b
	2017	13	18,78 ± 3,32	ab	25,03 ± 4,6	a
	2018	33	17,57 ± 3,19	b	27,8 ± 5,98	a
	2019	15	21,53 ± 2,86	a	17,52 ± 2,57	b

<sup>a</sup> Medias obtenidas de todas las observaciones ± el desvío estándar, para cada variable según el año de evaluación y el sitio de estudio. Letras diferentes en las columnas y dentro del sitio de estudio indican diferencias estadísticamente significativas según test de comparación de medias Tukey ( $P < 0,05$ ).

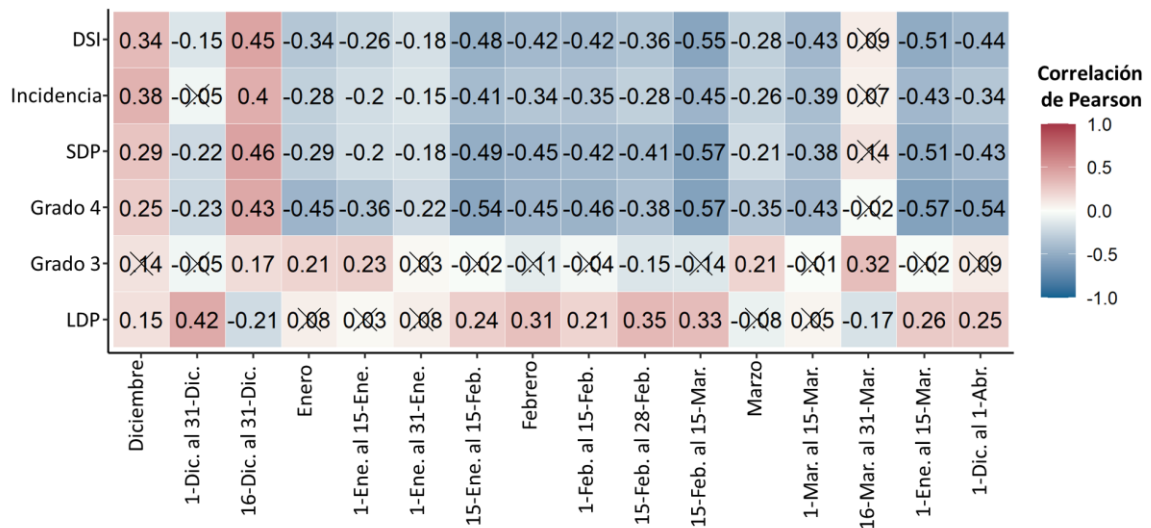
Se realizaron correlaciones de los parámetros de la enfermedad con las precipitaciones mensuales y quincenales, incluyendo también las precipitaciones totales de la campaña (1 de diciembre al 1 de abril), y las precipitaciones acumuladas en los meses de susceptibilidad a la enfermedad por formación de clavos (enero a marzo) (**Figura 4.13, Tabla S 4.3**). Las correlaciones negativas indican que mientras más mm de lluvia son acumulados, menor es el síntoma de la enfermedad, a su vez, las correlaciones positivas indican que a mayores precipitaciones mayor es la expresión de la enfermedad.

La mayor correlación se observó entre las vainas grado 4 y SDP para las precipitaciones mensuales del 15 de febrero – 15 de marzo ( $R = -0,57$ ), como también para las precipitaciones totales acumuladas del 1 de enero al 15 de marzo (total del período desusceptibilidad) para las vainas grado 4 ( $R = -0,57$ ).



Se observaron correlaciones positivas durante el mes de diciembre y del 15 al 31 de diciembre, en todos los parámetros de la enfermedad menos en LDP para el 15 al 31 de diciembre ( $R = -0,21$ ). LDP tiene correlación positiva y significativa en casi todos los períodos analizados, indicando que a mayores precipitaciones la frecuencia de observar vainas de baja sintomatología (grado 1 o 2) es mayor.

Las correlaciones con el parámetro “grado 3” fueron no significativas en la mayoría de los períodos analizados, o positivas con valores entre 0,17 a 0,32, con solo un período (15 de febrero al 15 de marzo) con correlación negativa ( $R = -0,15$ ).



**Figura 4.13.** Correlaciones entre la precipitación estacional (períodos de lluvia) y los parámetros del carbón como índice de severidad de la enfermedad (DSI), incidencia, vainas severamente afectadas (SDP), vainas enfermas grado 3 y 4 y vaina ligeramente afectadas (LDP) obtenidos en los sitios de muestreo. Los números indican el coeficiente de correlación de Pearson, y el color grafica los valores de correlación, siendo tonos azulados para valores negativos y rojizos para valores positivos. Valores tachados significan una correlación no significativa ( $P > 0,05$ )

## **4.2.2 EVALUACION DE LA INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES DE TEMPERATURA EN LA INFECCIÓN**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Ensayo en condiciones controladas**

El ensayo se llevó a cabo invernadero en las instalaciones del INTA – IPAVE. Cada unidad experimental fue una maceta plástica de 8 litros con sustrato en proporción de tierra y vermiculita 3:1 v/v. Se sembraron semillas de maní cultivar Granoleico en plantineras y se trasplantaron en estado de plántula (10 DDE) a cada unidad experimental, para lograr una planta por maceta. Las plantas se mantuvieron en ambiente controlado, sin restricciones hídricas, libre de plagas y control de malezas en forma manual.

Al momento del trasplante, cada maceta fue inoculada con teliosporas de *T. frezii*, adicionando 0,5 g de teliosporas en solución con 200 cm<sup>3</sup> de agua, para lograr una concentración aproximada de 10.000 teliosporas g<sup>-1</sup> de suelo.

Se mantuvieron 5 unidades experimentales (repeticiones) en cinco compartimientos diferentes de los invernaderos, fueron mantenidos bajo diferentes condiciones de temperatura: 24, 26, 28, 30, 32 °C. Además, fue utilizada una cámara de crecimiento programada a 22 °C.

La temperatura fue registrada durante 21 días con las plantas de maní en estado reproductivo. Los cubículos de los invernaderos no son homogéneos, y el control del ambiente no es preciso, en este sentido, se observaron diferencias entre la temperatura programada y la temperatura registrada. De esta manera, la temperatura media total real fue la utilizada como variable independiente, conformando los tratamientos: 22; 24,6; 26,5; 27,2; 29; 29,8 °C.

Todos los clavos que iniciaron su ingreso al suelo durante el período de temperatura controlada fueron identificados y evaluados en estado de madurez (R7 o R8; Boote 1982). La evaluación fue realizada según incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) y el índice de severidad del carbón (DSI), determinando la severidad en cada vaina (Ver Capítulo 1). Las flores, clavos y frutos producidos fuera del período de temperatura controlada fueron removidos.

## **Ensayo en condiciones de campo**

En este estudio observacional fueron utilizados lotes de relevamientos regionales para el monitoreo de la situación sanitaria del carbón del maní en la provincia de Córdoba (Ver Capítulo 3.1). Se seleccionaron 30 lotes (5 lotes en 2017, 12 en 2018 y 13 en 2019) donde se realizó la determinación de inóculo en suelo previo a la siembra (Ver metodología en Capítulo 3.2). De esta manera, cada lote fue clasificado según la cantidad de teliosporas estimada como “bajo” o “alto” inóculo (menor a 750 o mayor a 750 teliosporas g<sup>-1</sup> de suelo, respectivamente). Datos de incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad del carbón (DSI) registrados en cada lote fueron utilizados para el análisis (**Tabla S 4.4**).

A partir de una base de datos de variables climáticas de los relevamientos regionales de carbón, se seleccionaron datos de temperatura media, mínima y máxima, estimados semanalmente (promedios), en los meses de enero y febrero (momento de clavado y susceptibilidad a la infección) (**Tabla S 4.5**).

## **Análisis estadísticos**

Para los experimentos en maceta y a campo, análisis de comparación de medias de los parámetros de la enfermedad fueron realizados según test de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Fueron realizados análisis de regresión de la variable DSI para los datos de campo fueron realizados, graficando las ecuaciones y las pendientes para cada uno de los períodos de estudio. Además fueron realizados análisis de correlación de Pearson con todas las variables de enfermedad en función de las temperaturas, particionando según la cantidad de esporas de los lotes en estudio, utilizando las funciones del paquete ‘corrplot’ de R (Wei y Simko 2021).

Todos los datos se analizaron en R versión 4.0.5 (Team R Development Core 2018).

## RESULTADOS

### Ensayo en condiciones controladas

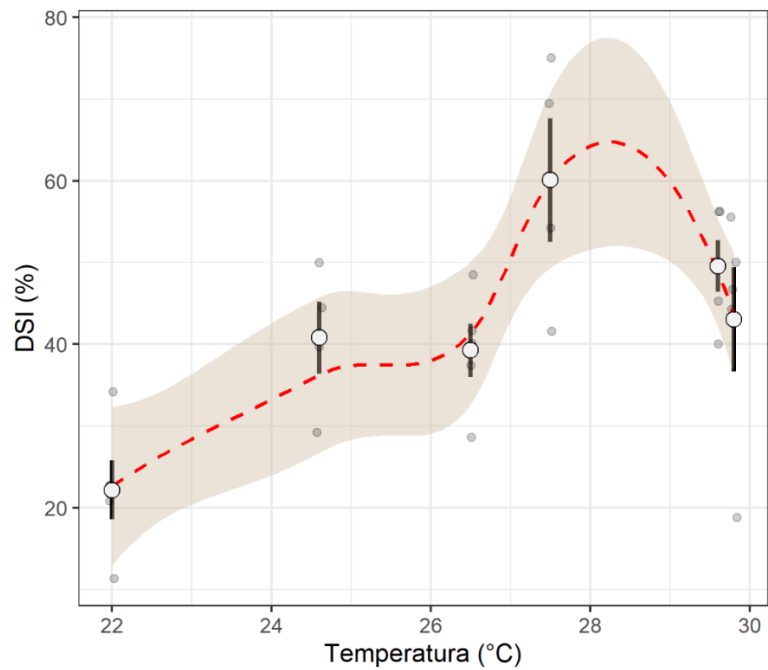
Las temperaturas mínimas, máximas y medias diarias de cada box del invernadero y en la cámara de crecimiento se registran en la **Tabla S 4.6**. La media de las temperaturas mínimas registradas durante el período de estudio estuvieron comprendidas en un rango de 22,7 a 26,4 °C, mientras que la media de las temperaturas máximas registradas estuvo comprendida entre 26,6 y 32,9 °C, sin considerar la cámara de crecimiento (22 °C).

Infecciones de carbón fueron registradas en todos los tratamientos de temperaturas, siendo el menor DSI registrado a 22 °C (22,18 %), y el mayor a 27,2 °C (60,07 %). A partir de esa temperatura, el DSI disminuye (49,56 y 43,04 % para 29 y 29,7 °C, respectivamente) aunque sin diferencias significativas ( $P > 0,05$ ; **Tabla 4.7, Figura 4.14**).

**Tabla 4.7.** Medidas resúmenes y comparaciones de las evaluaciones de la severidad del carbón del maní como incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad (DSI) del carbón del maní, según diferentes temperaturas medias en ensayos en condiciones controladas.

Temperatura media (°C)	n	Incidencia (%) <sup>a</sup>	SDP (%) <sup>a</sup>	DSI (%) <sup>a</sup>
22	5	32,5 ± 10,83 a	20,23 ± 10,85 a	22,18 ± 8,08 a
24,6	4	51,39 ± 2,78 ab	45,14 ± 13,68 ab	40,8 ± 8,85 ab
26,5	5	48,66 ± 12,91 ab	42,02 ± 12,33 ab	39,25 ± 7,24 ab
27,2	4	71,43 ± 13,15 b	66,57 ± 18,7 b	60,07 ± 15,1 b
29	5	62,92 ± 9,59 b	53,42 ± 10,75 b	49,56 ± 7,06 b
29,7	5	52,53 ± 16,1 b	48,77 ± 14,27 b	43,04 ± 14,23 b

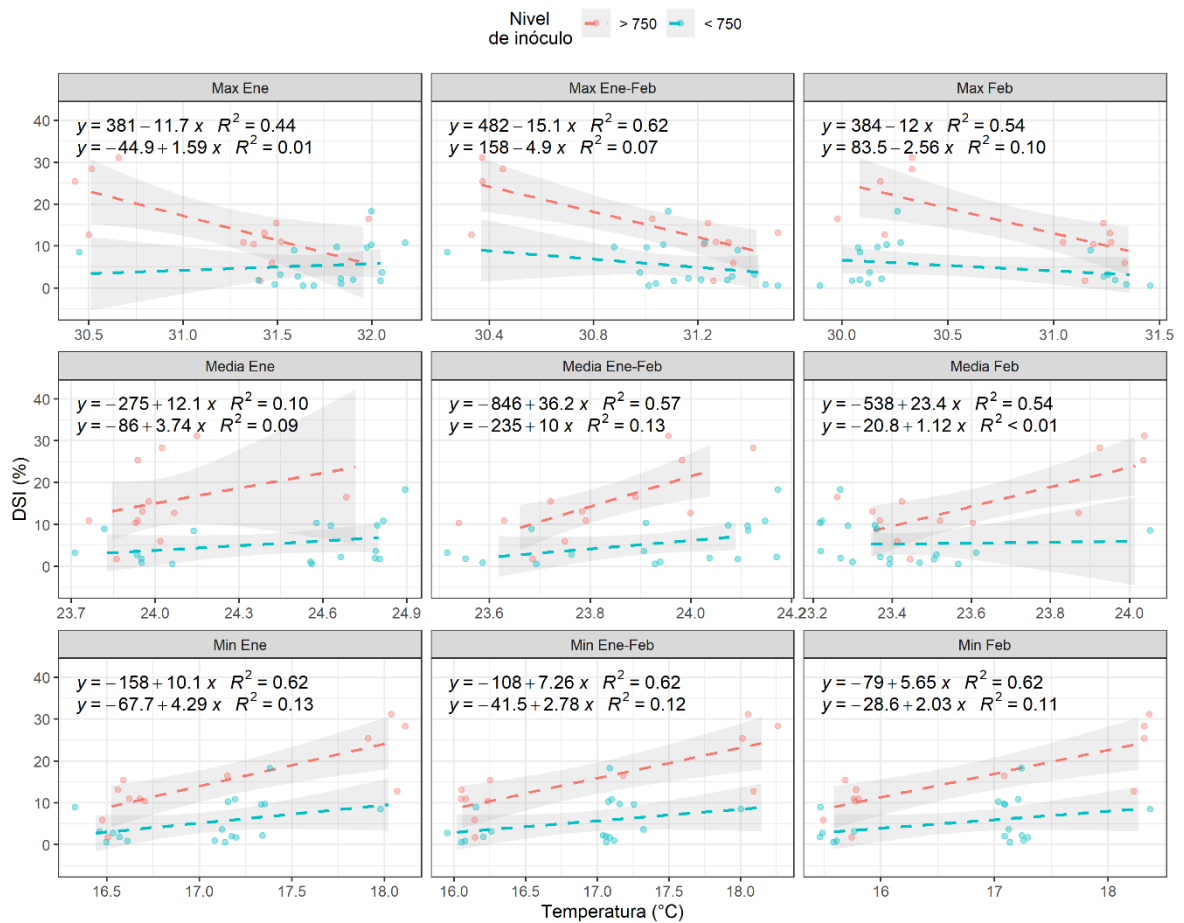
<sup>a</sup> Medias obtenidas de todas las observaciones ± el desvío estándar, para cada variable según la temperatura media registrada (°C). Letras diferentes en las columnas y dentro del sitio de estudio indican diferencias estadísticamente significativas según test de comparación de medias Tukey ( $P < 0,05$ ).



**Figura 4.14.** Línea de tendencia de las incidencias de carbón del maní registradas en diferentes temperaturas medias en ensayos en condiciones controladas. Distribución del índice de severidad del carbón del maní (DSI %) en función de diferentes temperaturas medias (°C) evaluadas en ensayos en macetas. El punto blanco representa la media con su desvío estándar y los puntos grises son observaciones. El área sombreada grafica el 95 % de confianza alrededor de la línea punteada de tendencia.

## Ensayos en condiciones de campo

Análisis de regresión y correlación permitieron explorar el efecto de las temperaturas medias, mínimas y máximas en la intensidad de la enfermedad. El modelo indica que el nivel de inóculo tiene un efecto significativo en la respuesta de la enfermedad ( $P < 0,05$ ), en la interacción con las temperaturas observadas. Las pendientes regresoras y sus coeficientes de determinación son mayores en altos niveles de inóculo ( $> 750$  esporas  $g^{-1}$  suelo) (Figura 4.15).

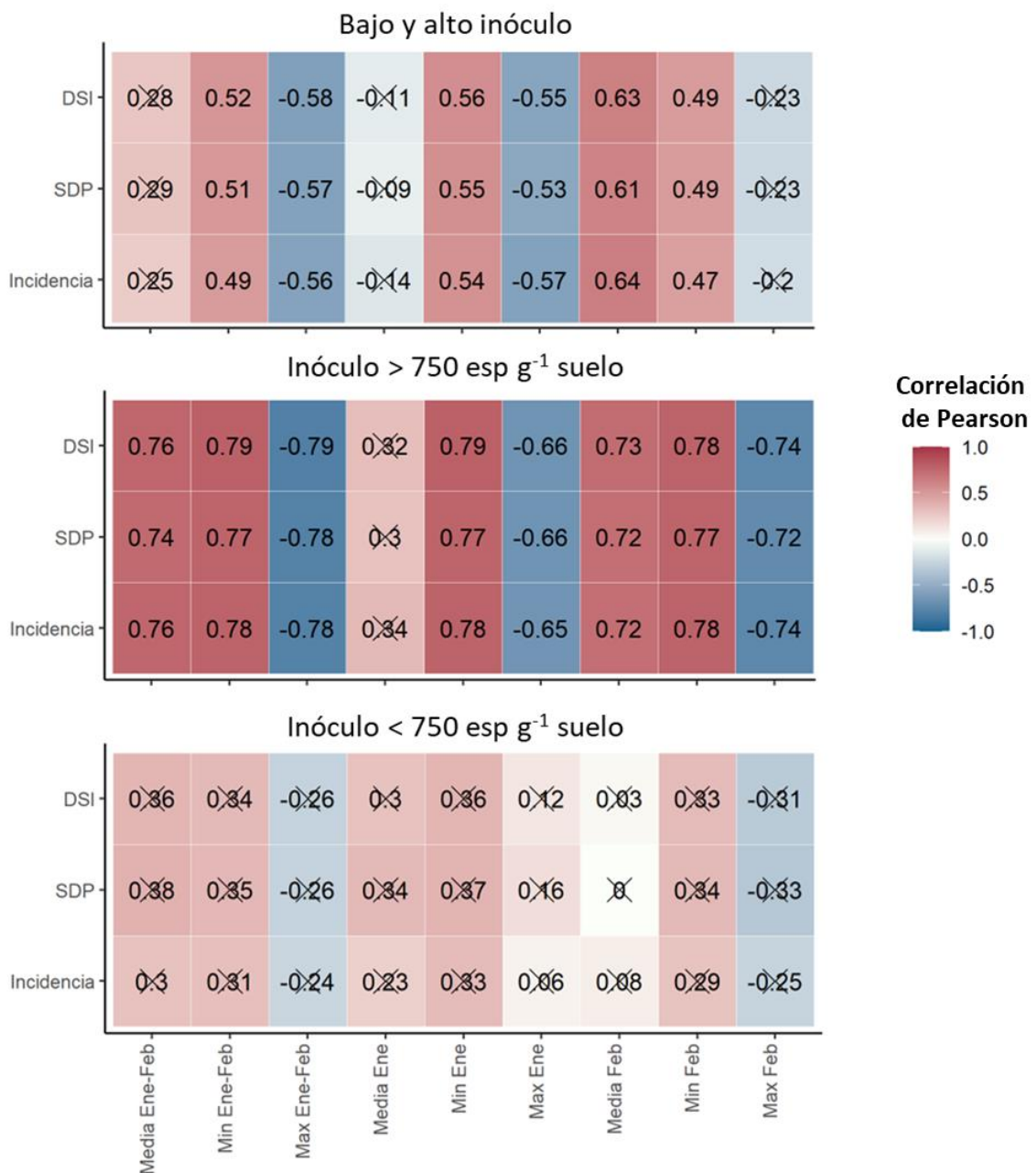


**Figura 4.15.** Regresión lineal del índice de severidad del carbón del maní (DSI) en función de los promedios de las temperaturas mínimas, medias y máximas en los meses de enero, febrero y enero y febrero, obtenidos en diferentes lotes muestreados. Las líneas punteadas representan la línea regresora para lotes de alto inóculo de *T. frezii* en suelo (rojo) y bajo inóculo (celeste), los puntos son observaciones y el área sombreada grafica el 95 % de confianza alrededor de la línea punteada de tendencia

Al particionar el análisis según la cantidad de inóculo de suelo, no se observaron correlaciones significativas ( $P > 0,05$ ) cuando el inóculo de los campos evaluados fue menor a 750 teliosporas  $g^{-1}$  de suelo, en ninguna de las variables de temperatura evaluadas. Sin embargo, una alta correlación fue observada para los lotes con alto inóculo ( $> 750$  teliosporas  $g^{-1}$  de suelo).

Si bien las temperaturas medias de los meses de enero y febrero tienen una correlación significativa, las diferencias numéricas de esta variable es de un rango bajo ( $\sim 23,6$  a  $\sim 24$ ). Además, las temperaturas medias del mes de febrero tienen una correlación significativa, pero no las temperaturas medias del mes de enero, para lotes de alto inóculo.

En un análisis global, las temperaturas no tienen correlaciones significativas en situaciones de bajo inóculo, con una mayor influencia en las condiciones de mayor inóculo. Para esta situación, la correlación negativa en las temperaturas máximas indican que a mayor temperatura la intensidad del carbón es menor, mientras que la correlación positiva y significativa en la temperatura mínima, indica que mientras menor es la temperatura mínima, menor es la expresión de la enfermedad. Esto sugiere que tanto las temperaturas máximas extremas, como las mínimas extremas, condicionan en cierta medida la expresión de la enfermedad (**Figura 4.16**).



**Figura 4.16.** Correlaciones entre los promedios de las temperaturas mínimas, medias y máximas y los parámetros del carbón como índice de severidad de la enfermedad (DSI), incidencia y vainas severamente afectadas (SDP) obtenidos en diferentes lotes muestreados, particionado por lotes de bajo, alto o alto y bajo inóculo de suelo de *T. frezii*. Los números indican el coeficiente de correlación de Pearson, y el color grafica los valores de correlación, siendo tonos azulados para valores negativos y rojizos para valores positivos. Valores tachados significan una correlación no significativa ( $P > 0,05$ )



## DISCUSIÓN

La temperatura y la humedad son dos variables agroclimáticas que influyen en la expresión de las enfermedades. Según los resultados de este estudio, la condición hídrica del suelo y las precipitaciones tienen influencia en la expresión del carbón del maní, como también las variables de temperaturas extremas mínimas y máximas.

La limitación de agua durante el período de crecimiento y desarrollo del cultivo aumenta la incidencia y severidad del carbón del maní. Según los análisis realizados, las mayores correlaciones se ubicaron en los períodos comprendidos entre mediados de enero y principios de marzo. Estos períodos coinciden con estado donde el maní suele desarrollar clavos, que es el órgano susceptible del cultivo (Marinelli et al., 2008; Rago et al., 2017). La interpretación de los valores de correlación, deben estar sujetos a la aplicación del problema de estudio (Kozak 2009). De este modo, las correlaciones observadas en este estudio ( $R > 50$ ) pueden considerarse de moderada o alta correlación (Mukaka 2012). Además, en los experimentos en maceta fue observado que en una situación de bajo CHS (30 %) la incidencia de la enfermedad aumenta significativamente ( $P < 0,05$ ), confirmando los resultados observados a campo.

Diversos patógenos se ven favorecidos por períodos de mojado prolongados, precipitaciones o altas humedades relativas. Sin embargo, los resultados de este estudio indican que las infecciones de carbón se ven beneficiadas en situaciones de menores precipitaciones. Considerando que los clavos y la infección se desarrollan bajo tierra, probablemente el carbón sea de mayor similitud a las enfermedades de las raíces que a las de hojas o tallos. Sumado a esto, condiciones de sequía pueden aumentar la resistencia a patógenos o, por el contrario, pueden aumentar su susceptibilidad. Mayor resistencia bajo condiciones de sequía se reporta por ejemplo en infecciones de *Sclerotinia sclerotiorum* en *Nicotiana benthamiana* (Ramegowda et al., 2013), o de *Blumeria graminis* en cebada (Wiese et al., 2004) o tomate infectado por *Botrytis cinerea* u *Oidium neolycopersici* (Achuo et al., 2006), entre otros. Contrariamente, un aumento en la susceptibilidad por sequía fue reportado para *Fusarium* spp., *Rhizoctonia bataticola*, *Magnaporthe oryzae*, *Macrophomina phaseolina*, *Puccinia* sp., *Erysiphe graminis* y *Rhizoctonia bataticola*, entre otros hongos patógenos (Wegulo et al., 2013; Bidzinski et al., 2016; Pandey et al., 2017; Sinha et al., 2019). Sin embargo, no hay ningún estudio específico que aborde el efecto de la sequía en

el carbón, siendo este el primer reporte que identifica el efecto de las precipitaciones y el contenido hídrico de suelo frente a la enfermedad.

Se ha informado que el estrés abiótico a largo plazo aumenta la susceptibilidad a los patógenos por dos mecanismos diferentes, pero no mutuamente excluyentes: el aumento de la tasa de colonización del patógeno y el debilitamiento de las defensas de la planta. El aumento de la tasa de colonización ha sido reportado por efecto de la salinidad en la infección de raíces por *Phytophthora cryptogea* en *Chrysanthemum morifolium* (MacDonald 1982), y por sequía en las infecciones de *Macrophomina phaseolina* en *Phaseolus vulgaris* causada por la reducción en el estado hídrico (Mayek-Pérez et al., 2002). Por otro lado, la inhibición de las defensas ha sido reportada en *Arabidopsis* infectadas por *Pseudomonas syringae* bajo sequía, donde ABA inhibió la señalización de defensa (De Torres-Zabala et al., 2007; Goel et al., 2008; Aung et al., 2018), en el arroz infectado con *Magnaporthe oryzae*, se identificó que la sequía suprimía la inmunidad desencadenada por patrones y efectores en la planta, pero también se reprimían masivamente los genes de virulencia del patógeno (Bidzinski et al., 2016; Aung et al., 2018).

En el patosistema *Thecaphora*-maní, la reducción de la disponibilidad de agua, causada por las menores precipitaciones en los campos o un por el déficit hídrico controlado en el invernadero, aumentó los síntomas de *T. frezii* en las vainas. Una de las variables que mejor explica la enfermedad es el porcentaje de vainas severamente afectadas (SDP %) (Paredes et al., 2021a, b). En años de mayores precipitaciones fueron observados menores SDP % en comparación con el año de menor precipitación (2018), donde se observó la mayor intensidad del carbón. En este sentido, las vainas de severidad grado 4 tienen una mayor influencia según las correlaciones observadas. Como se dijo anteriormente, la mayor susceptibilidad puede estar dada por mecanismos a nivel de la colonización del patógeno, por ejemplo una alteración en la composición o concentración del exudado de los clavos, favoreciendo la germinación de teliosporas o el mayor reconocimiento de *T. frezii* en el clavo; o aumentando la disponibilidad nutricional para el hongo en los tejidos vegetales; o puede estar actuando a nivel del debilitamiento de las defensas de la planta, reduciendo o inhibiendo la señalización de defensa en el clavo, permitiendo un mayor crecimiento micelial en las vainas.

El crecimiento micelial es ampliamente usado para evaluar el efecto de los factores ambientales (como la temperatura) en cultivos de patógenos puros en laboratorio. Sin embargo, como lo indica Katan (2017), la respuesta del patógeno a la temperatura (u otros factores) no necesariamente refleja el efecto que tiene la temperatura en la severidad de la enfermedad. Las respuestas de la planta y del entorno biótico a ese factor pueden ser totalmente diferentes a las del patógeno. En este sentido, en el experimento en macetas en condiciones controladas realizado en este trabajo, se evaluó directamente el efecto de la temperatura en la infección de *T. frezii*. Fue registrada mayor infección a los 27,5 °C, disminuyendo la intensidad en temperaturas por encima y por debajo, aunque sin diferencias estadísticas entre las temperaturas comprendidas entre ~24,5 y ~30 °C. Estudios de crecimiento micelial a laboratorio podrían incluirse para complementar a la investigación en futuros trabajos. Por otro lado, en los análisis observacionales se midió la respuesta de la enfermedad en función de condiciones de temperatura ambiente a campo en tres campañas, donde la temperatura media, mínima y máxima, registradas en los meses de enero y febrero, tienen influencia en los parámetros de enfermedad evaluados, solo para los lotes con alto potencial inóculo (> 750 teliosporas g<sup>-1</sup> suelo).

Otros patógenos de suelo demostraron diferencias en la germinación de estructuras de resistencia bajo diferentes condiciones de temperatura y humedad. La germinación de ascosporas *S. sclerotiorum* en canola fue óptima cuando se incubaron en humedad continua (agua libre) a 21 °C, observándose una germinación significativamente más baja a 10 o 30 °C (Shahoveisi et al., 2022). También, microesclerocios de *V. dahliae* mostraron la mayor germinación (78 %) a 20 °C y la germinación más baja (12 %) a 50 °C (Hu et al., 2014). Para *T. frezii*, en experimentos de laboratorio se observó que teliosporas con tratamientos térmicos de 90 °C (simulando tratamientos industriales) no lograron germinar ni producir colonias en placas de Petri (Paredes et al., 2017a). Sin embargo, la germinación no necesariamente conduce a la efectividad del proceso infeccioso (Katan 2017). Tal lo reportado en los resultados de este trabajo, temperaturas máximas extremas condicionan la enfermedad, con una correlación negativa y significativa en lotes de alto inóculo, donde a mayores temperaturas la enfermedad es menor.

Las fluctuaciones de las temperaturas durante el día pueden influenciar la respuesta de patógenos a enfermedades. Echeverri-Rico et al., (2021) estudiaron el efecto que tenían las temperaturas mínimas y máximas en infecciones de *Burkholderia glumae* en arroz,

encontrando que sólo la temperatura mínima se correlacionó con la incidencia de la enfermedad. Las mayores infecciones observadas demostraron que la temperatura mínima alta pero no la temperatura máxima, fue determinante para la colonización de *B. glumae* en condiciones de campo. En su estudio las temperaturas máximas estuvieron por encima de los 34 °C, mientras que las temperaturas mínimas por encima de los 23 °C. En el análisis aquí planteado, las temperaturas mínimas estuvieron cercanas a los 17 °C y las máximas encima de 31 °C. Se observó correlación significativa tanto para la temperatura mínima como para la temperatura máxima, pero sólo en lotes donde la presión de inóculo fue alta (> 750 teliosporas g<sup>-1</sup> suelo). En otros estudios realizados sobre el efecto de la infección de *T. fezzii* en función de la temperatura de suelo, Genesio et al., (2017) observaron poca variación en las temperaturas de suelo en el período de tiempo evaluado, concluyendo que las diferencias en la infección de carbón observadas podrían estar más ligadas al efecto de las precipitaciones que al de la temperatura.

Los resultados aquí expuestos indican que las variables de precipitaciones, contenido hídrico del suelo, o temperaturas mínimas y máximas, influyen a la expresión de carbón. Trabajos futuros podrían ser estudiados según la cantidad acumulada de horas por día por encima o debajo de umbrales que se relacionen a una mayor o menor intensidad de la enfermedad, de esta manera intentar de modelar umbrales térmicos. El entendimiento de la biología del carbón y cómo afectan las variables biometeorológicas a la enfermedad, pueden ser de gran utilidad para predecir condiciones de mayor riesgo. Además, estrategias de manejo pueden ser generadas como controles específicos en momentos y condiciones determinadas, o mediante modelos particulares. El período de mayor correlación entre las precipitaciones y la intensidad del carbón se sitúa entre mediados de enero y mediados de marzo, las estrategias de manejo podrían estar focalizadas en este momento cuando las condiciones ambientales así lo requieran.

## **CONCLUSIONES**

- El menor contenido hídrico de suelo (30 %) predispone significativamente a una mayor infección de carbón.
- Las precipitaciones que ocurren durante el clavado del maní tienen una correlación negativa y significativa con la intensidad de la enfermedad.
- Las variables de temperaturas extremas mínimas y máximas influyen a una mayor expresión de la enfermedad

## 4. INFECCIÓN Y COLONIZACIÓN DE *Thecaphora frezii* EN *Arachis hypogaea*

### 4.3 EFECTO DEL RASTROJO

*“Establecer el efecto de los residuos de rastrojos de cultivos en el proceso de infección de T. frezii sobre A. hypogaea”*

### INTRODUCCIÓN

El cultivo de maní está especialmente integrado en la producción agrícola de la provincia de Córdoba. El proceso histórico que el cultivo fue transitando, logró que se posicionara como economía regional (Giayetto 2017). La infraestructura agrícola especializada para llevar adelante el cultivo, la cosecha, y las industrias transformadoras permitieron que el cultivo se establezca en la provincia de Córdoba, siendo en la actualidad uno de los cultivos típicos, ligado a las estrategias agrícolas de la región.

La capacidad de uso de los suelos es una clasificación que indica el grado de aptitud natural que presenta el suelo para la producción agrícola, de acuerdo a patrones edáficos, climáticos y toposiográficos de un área determinada (Klingebiel 1958). En este sentido, suelos con mejores aptitudes podrán tener un desarrollo más intensivo. Córdoba tiene gran variedad de suelos con aptitudes diferentes. Por lo general, las tierras de mejor calidad se sitúan en el sur-este provincial, mientras que hacia el oeste predominan las de menor potencialidad, coincidiendo con el patrón de distribución de lluvias. Aproximadamente la mitad de los suelos de la provincia (8,3 millones de hectáreas) son aptos para la agricultura (M.A.GyP 2022). En la actualidad, las principales áreas sembradas de maní en la provincia de Córdoba corresponden a los departamentos de General Roca, Río Cuarto, Juárez Celman, Roque Sáenz Peña (SISA 2021). Los cultivos predominantes sembrados en esa región son soja y maíz como cultivos estivales, y trigo como cultivo invernal (M.A.GyP 2022). Cultivos de cobertura, alfalfa, sorgo, girasol, entre otros, también son sembrados, aunque con menor frecuencia. El cultivo de maní por su importancia regional y productiva, se integra a las rotaciones de cultivo de la región.

Durante muchos años el cultivo de maní fue estigmatizado por emplear métodos de movimiento de suelo en su producción, lo cual favorecía erosiones hídricas y eólicas. Frente a este escenario, diferentes estudios permitieron identificar prácticas de manejo que aseguran sistemas de producción de maní sustentables y de bajo impacto. En este sentido, un plan de rotación de un maní cada cuatro años debe adecuarse a las buenas prácticas agrícolas (Bongiovanni et al., 2016). Los beneficios de una rotación conveniente son varios, desde una reducción de las tasas erosivas, mejorar o mantener la condición estructural y de materia orgánica de los suelos, hacer mejor uso de la fertilidad residual, una mayor eficiencia en el control de las malezas y menor presión de enfermedades, ya que permiten una disminución sistemática de la fuente de inóculo (Cisneros et al., 2017; Pedelini y Monetti 2018).

Históricamente las labores de maní se realizaban bajo sistemas de labranza convencional. A medida que fue avanzando la tecnificación, estudios determinaron que la posibilidad de sembrar maní bajo siembra directa era factible, difundiendo los primeros resultados y experiencias en la década del 90' (Giayetto 2017). Los beneficios de la siembra directa incluyen una mayor eficiencia en la captura de agua, menor evaporación del agua del suelo, disminuye los procesos erosivos y minimiza la expresión de malezas, y el maní logró en cierta medida incluirlos utilizando esta práctica conservacionista (Haro 2015). En la actualidad, la mayoría de los campos han adoptado el sistema de siembra directa como tecnología de trabajo (Bongiovanni et al., 2016). El incremento de la cobertura superficial del suelo y un adecuado manejo de los cultivos antecesores y posteriores al maní, contribuyen a la recuperación de los suelos y a lograr sostenibilidad en la producción.

La planificación de la siembra de los cultivos respetando las rotaciones es una estrategia que provee ventajas productivas, sustentables y ambientales. Una correcta planificación es necesaria donde cada etapa es esencial para potenciar el resultado productivo. Sin embargo, debido a la rotación propuesta para el cultivo (cuatro años), el arrendamiento de lotes para la siembra de maní se instala como una necesidad recurrente. Dada la limitante en las potenciales áreas de siembra de la provincia, la selección de lotes para sembrar maní es dificultosa. Ante esta necesidad, la rotación de maní muchas veces no logra ser planificada de la manera deseada, con planteos productivos en situaciones donde el cultivo de maní no cumple con las rotaciones de cuatro años planeada (Bongiovanni et al., 2017).

La “rotación de cultivos” tiene en cuenta que sean cultivos que comparten el mismo período de crecimiento (ya sea estival-estival o invernal-invernal), la “secuencia de cultivos” considera también a los cultivos entre las rotaciones. En este sentido, tanto la secuencia como la rotación de cultivos, puede dar respuestas a diferentes componentes e interacciones edáficas y agrícolas. Sin embargo, el historial de cultivo de lotes específicos a menudo es inexistente o es difícil acceder a esa información de calidad. En este sentido cobran relevancia los sistemas de teledetección, que permite identificar, registrar y analizar la energía reflejada o emitida por los cultivos. Esta información puede ser obtenida a bajo costo, para grandes áreas y de forma periódica, permitiendo estudiar la variabilidad espacial y temporal de los lotes (Bocco et al., 2014). Los datos provistos por los sensores remotos han sido utilizados eficazmente en el mapeo de superficies agrícolas en nuestro país, de esta manera, predicciones en la secuencia de cultivo pueden ser estimadas a partir del análisis de su respuesta espectral (Nolasco et al., 2016).

El uso de la teledetección para identificar las secuencias de cultivos brinda información sustancial para diversos estudios como base para determinar el efecto que tienen los rastrojos en el suelo. Las modificaciones en las comunidades microbianas, fauna edáfica, y estructura de los suelos, pueden tener efectos sobre los patógenos, más aún en los patógenos de suelo como lo es el *T. frezii*. Comprender el impacto en las infecciones de carbón que pueden tener los rastrojos de los cultivos en sus diferentes secuencias, pueden brindar información a la hora de buscar una planificación estratégica de arrendamientos o esquemas productivos. Es por esto que se pretende establecer el efecto de los rastrojos de cultivos sobre la infección del *T. frezii*.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

En este estudio se utilizaron 57 lotes de maní de la campaña 2019-20, del relevamiento del estado sanitario del carbón en la provincia de Córdoba (Ver Capítulo 3.1). Cada lote mantenía su georreferenciación permitiendo análisis temporales y espaciales. La información aproximada de los años desde la última siembra de maní en cada lote y el cultivo inmediato antecesor fue provista por los técnicos responsables de cada campo. Datos de incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad del carbón (DSI) registrados en cada lote fueron utilizados para el análisis.



## **Determinación de la rotación de cultivos por teledetección**

La identificación de la cobertura de cultivo se obtuvo utilizando el software libre QGIS (QGIS Development Team 2022). Se utilizaron imágenes del satélite Sentinel-2 de una resolución espacial de 10 metros. Las bandas utilizadas fueron: Banda 2 (Azul), Banda 3 (Verde), Banda 4 (Rojo), Banda 8 (Infrarrojo cercano 1), Banda 11 (Onda corta infrarroja 1) y Banda 12 (Onda corta infrarroja 2).

El procesamiento de imágenes para determinar la rotación de cultivos, se realizó en estado vegetativo del cultivo de cada lote en los meses de enero, febrero o marzo, o en momento de cultivo cosechado (mayo-junio), según la calidad de la imagen obtenida. Las diferencias en el comportamiento espectral de los cultivos típicos como soja (Sj), maíz (Mz), maní (Mn), entre otros, permitieron determinar el uso de cada lote mediante diferentes combinaciones de bandas y comparaciones visuales de colorimetría. La validación interna del método fue realizada en 15 rotaciones conocidas (cultivo antecesor soja o maíz, y lote de maní) las cuales fueron identificadas de manera correcta en todos los casos.

A partir de la colección de imágenes identificadas temporal y espacialmente, y los datos de georreferencia, se construyó la serie temporal de cobertura de cultivos para cada lote en las campañas estivales de 2016-17, 2017-18 y 2018-19.

## **Análisis de datos**

Gráficos exploratorios fueron realizados para las diferentes rotaciones de cultivo y cultivos antecesores. Cada lote fue clasificado de manera arbitraria según los años desde el último cultivo de maní como: < 4; de 4 a 10; o > 10 años en referencia al potencial inóculo que puede tener ese lote (Paredes et al., 2017b; Rago et al., 2017). Se realizaron análisis según las rotaciones de cultivos de mayor frecuencia (“Mz-Sj-Mz” y “Sj-Mz-Sj”) y según el cultivo antecesor sea “Mz” o “Sj”. Análisis de comparación de medias fueron realizados para las variables según test de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Todos los datos se analizaron en R versión 4.0.5 (Team R Development Core 2018).

## RESULTADOS

### Efecto de rotaciones de cultivos

La rotación de cultivos predominante fue Sj-Mz-Sj (n = 18; 31,5%), seguido por Mz-Sj-Mz (n = 11; 19,3%).

Con excepción de un lote con rotación de cultivo Mz-Mz-Sj (18,41 DSI%), los lotes de mayor intensidad de carbón fueron los que en su rotación fue relevada al menos una siembra de maní. Lotes sembrados con maní tres años antes (Mn-Mz-Sj) registraron 14,46 DSI%, mientras que lotes que tuvieron una siembra de maní dos años antes registraron 20,65 y 29,85 DSI% para las rotaciones Mz-Mn-Sj y Sj-Mn-Sj, respectivamente (**Tabla 4.8**).

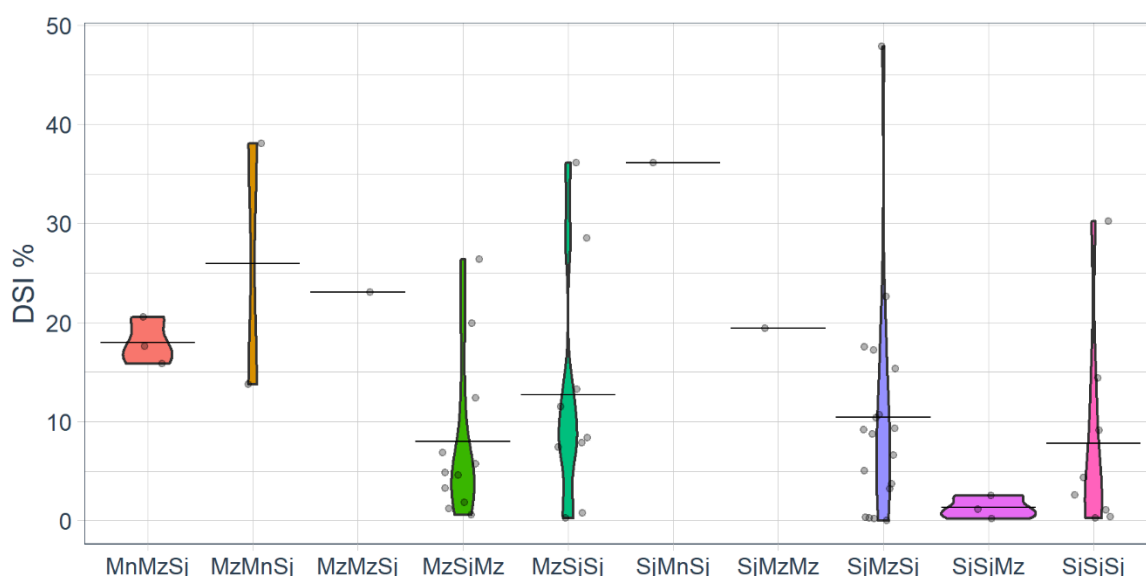
**Tabla 4.8.** Medidas resúmenes de las evaluaciones de carbón del maní como incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad (DSI), para las diferentes rotaciones de cultivos de los lotes evaluados en la campaña 2019-20.

Rotaciones de cultivos	n	Incidencia (%) <sup>a</sup>	SDP (%) <sup>a</sup>	DSI (%) <sup>a</sup>
Mn-Mz-Sj*	3	17,99 ± 2,38	15,22 ± 0,25	14,46 ± 0,33
Mz-Mn-Sj*	2	25,92 ± 17,18	22,11 ± 16,92	20,65 ± 15,1
Mz-Mz-Sj	1	23,06**	19,45**	18,41**
Mz-Sj-Mz	11	7,97 ± 8,29	6,39 ± 6,92	6,13 ± 6,55
Mz-Sj-Sj	9	12,68 ± 12,07	10,45 ± 11,12	9,89 ± 10,15
Sj-Mn-Sj*	1	36,09**	32,54**	29,85**
Sj-Mz-Mz	1	19,4**	14,75**	14,38**
Sj-Mz-Sj	18	10,46 ± 11,46	8,11 ± 9,27	7,76 ± 8,86
Sj-Sj-Mz	3	1,31 ± 1,16	0,79 ± 0,86	0,84 ± 0,8
Sj-Sj-Sj	8	7,81 ± 10,3	5,95 ± 7,44	5,78 ± 7,39

<sup>a</sup> Medias obtenidas de todas las observaciones ± el desvío estándar, para cada variable según las rotaciones de cultivos anterior al maní.

\* Lotes que tuvieron al menos una siembra de maní en la rotación de tres años evaluada

\*\* Rotaciones con solo un lote relevado



**Figura 4.17.** Gráfico de violín de la distribución del índice de severidad del carbón del maní (DSI %) para las diferentes rotaciones de cultivos de los lotes evaluados en la campaña 2019-20. El diagrama de violín representa la densidad de las observaciones, la línea horizontal es la media y los puntos grises son las observaciones.

Se observa un incremento significativo en la intensidad del carbón a medida que menos años transcurren desde la última siembra de maní (**Tabla 4.9**). El menor índice de severidad registrado fue en lotes con más de 10 años desde el último maní sembrado (1,69 %), siendo estadísticamente significativa ( $P < 0,05$ ) a la intensidad en los lotes de 4 a 10 años y menor a 4 años (8,97 y 13,47 %, respectivamente).

**Tabla 4.9.** Medidas resúmenes y comparaciones de las evaluaciones del carbón del maní como incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad (DSI), para los lotes clasificados según los años desde la última siembra de maní en cada lote.

Años desde última siembra de maní	n	Incidencia (%) <sup>a</sup>	SDP (%) <sup>a</sup>	DSI (%) <sup>a</sup>
< 4	20	16,87 ± 11,3 a	14,39 ± 10,39 a	13,47 ± 9,49 a
4 – 10	22	12,17 ± 11,37 a	9,25 ± 8,91 a	8,97 ± 8,62 a
> 10	15	2,37 ± 2,6 b	1,71 ± 1,89 b	1,69 ± 1,87 b

<sup>a</sup> Medias obtenidas de todas las observaciones ± el desvío estándar, para cada variable según los años desde la última siembra de maní. Letras diferentes en las columnas indican diferencias estadísticamente significativas según test de comparación de medias Tukey ( $P < 0,05$ ).

Se analizaron 11 lotes con la rotación de cultivo “Mz-Sj-Mz” y 18 con la rotación “Sj-Mz-Sj”. No se observaron diferencias estadísticas significativas en la intensidad del carbón para las rotaciones de cultivo más frecuentes “Sj-Mz-Sj” con respecto a “Mz-Sj-Mz” particionadas por los años desde el último cultivo de maní. Sin embargo, se observó una menor intensidad para la rotación “Mz-Sj-Mz” respecto a “Sj-Mz-Sj” para los lotes < 4 años (9,29 y 12,13 DSI %) y para 4 - 10 años (6,05 y 10,03 DSI %, respectivamente) (**Tabla 4.10**).

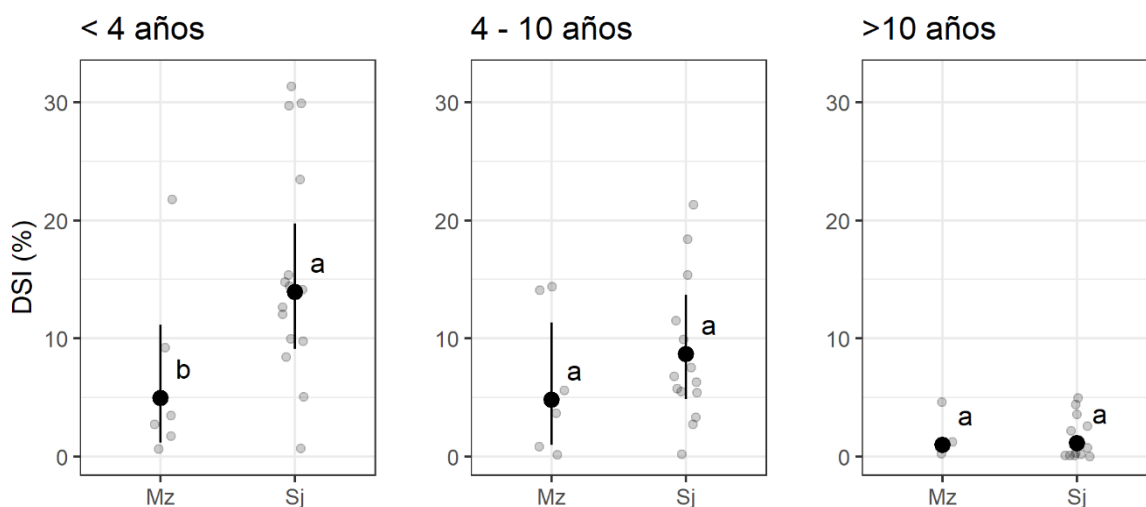
**Tabla 4.10.** Medidas resúmenes y comparaciones de las evaluaciones del carbón del maní como incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad (DSI), para las rotaciones de cultivo Maíz-Soja-Maíz o Soja-Maíz-Soja, particionado según los años desde la última siembra de maní en cada lote.

Años desde última siembra de maní	Rotación de cultivo	n	Incidencia (%) <sup>a</sup>	SDP (%) <sup>a</sup>	DSI (%) <sup>a</sup>
< 4	Mz-Sj-Mz	4	11,67 ± 10,6 a	9,91 ± 9,41 a	9,29 ± 8,78 a
	Sj-Mz-Sj	4	15,18 ± 3,16 a	13,07 ± 3,08 a	12,13 ± 2,86 a
4-10	Mz-Sj-Mz	4	8,21 ± 8,14 a	6,17 ± 5,63 a	6,05 ± 5,69 a
	Sj-Mz-Sj	8	14,01 ± 15,12 a	10,3 ± 12,21 a	10,03 ± 11,71 a
>10	Mz-Sj-Mz	3	2,71 ± 2,66 a	2,02 ± 2,4 a	2,03 ± 2,29 a
	Sj-Mz-Sj	6	2,57 ± 2,82 a	1,87 ± 2 a	1,82 ± 1,96 a

<sup>a</sup> Medias obtenidas de todas las observaciones ± el desvío estándar, para cada variable según la rotación de cultivos y años desde última siembra de maní. Letras diferentes en las columnas dentro de cada clasificación por año desde la última siembra de maní indican diferencias estadísticamente significativas según test de comparación de medias Tukey (P < 0,05).

### Efecto del cultivo inmediato anterior

Fueron analizados 15 lotes con cultivo antecesor Mz y 42 con cultivo antecesor Sj. Una mayor intensidad de carbón estadísticamente significativa ( $P < 0,05$ ) fue observada cuando el cultivo antecesor fue soja (15,44 DSI %) respecto de maíz (6,59 DSI %), en lotes donde se realizó maní con una frecuencia menor a 4 años. No se observaron diferencias estadísticas entre la intensidad del carbón según el cultivo antecesor para los lotes donde la última siembra de maní fue entre 4 – 10 años y tampoco en lotes con más de 10 años desde el último maní.



**Figura 4.18.** Diferencias entre el índice de severidad del carbón del maní (DSI), según el cultivo antecesor Soja (Sj) o Maíz (Mz), particionado según los años desde la última siembra de maní en cada lote. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas según test de comparación de medias Tukey ( $P < 0,05$ ). Los puntos grises representan observaciones, el punto negro las media con su límite de confianza de 95%.

## DISCUSIÓN

El entorno del sistema suelo en los patógenos de suelo es muy específico, donde el patógeno, el huésped y los microorganismos circundantes se ven continuamente afectados entre sí, así como también por los componentes bióticos y abióticos del medio ambiente (Katan 2017). En este trabajo, se observó una disminución significativa de la enfermedad cuando el cultivo antecesor fue maíz comparado con el cultivo antecesor soja. De manera similar, las rotaciones “Mz-Sj-Mz” como una rotación frecuentemente utilizada en los sistemas productivos pampeanos, registraron menores niveles de enfermedad, aunque no significativas, con respecto a la rotación “Sj-Mz-Sj” según los resultados obtenidos en este estudio observacional. Cambios en la composición microbiológica por restos vegetales, producto de diferentes rastrojos de cultivos, pueden haber condicionado las infecciones de carbón.

El historial de rotaciones de cultivos suele ser de difícil acceso o muchas veces inexistentes, perdiendo información valiosa en la planificación de los sistemas agrícolas. Las nuevas tecnologías de información disponibles, tales como las imágenes obtenidas por satélite y los programas de análisis y teledetección, permiten en la actualidad detectar y caracterizar lotes agrícolas y situaciones específicas. Sin embargo, la determinación del uso del suelo en ambientes heterogéneos significa un desafío al intentar definir cada uso del suelo. Chuvieco (1991) define los estudios multitemporales como análisis espaciales, elaborados a partir de la comparación de coberturas interpretadas en imágenes de satélite de un mismo lugar para distintos periodos de tiempo, con el fin de evaluar los cambios en las coberturas de suelo. Murthy et al., (2003) y Marini et al., (2007) encontraron que la máxima discriminación entre los cultivos ocurre en diferentes etapas del crecimiento, por esta razón, muchas veces no es posible la discriminación con una sola foto satelital. El empleo de datos multitemporales, que proporcionan información adicional sobre la fenología de la vegetación, son recomendadas para mejorar la discriminación (Chuvieco 1991). Las imágenes generadas en las fechas de febrero y marzo procesadas en este trabajo, brindaron información de los cultivos comunes sembrados en la región bajo diferentes fenologías, lo que permitió diferenciarlos con facilidad. Ciampagna et al., (2018) indican que con el uso de la teledetección y de las imágenes satelitales, es posible identificar el historial de cada lote productivo, permitiendo además al sector manisero la búsqueda de lotes para

arrendamiento que no hayan sido sembrados anteriormente con maní. Esto cobra importancia al contrastarlo con los resultados observados, donde las secuencias de cultivo que contenían maní en su rotación presentaban intensidades de carbón más elevadas.

En muchos patógenos de suelo, por ejemplo en *S. sclerotiorum*, conocer la duración de la sobrevivencia de las estructuras de resistencia permite determinar los períodos de rotación o el lapso entre cultivo como práctica de manejo (Brustolin et al., 2016). Sin embargo, la permanencia de las teliosporas en el suelo por más de cuatro años (Cazón et al., 2016), sumado al incremento constante de la intensidad regional de la enfermedad (Asinari et al., 2019), indican que las rotaciones de cuatro años promovidas para el cultivo de maní, no lograron disminuir la enfermedad. De igual manera, pueden haber contribuido a desacelerar el incremento del potencial inóculo. Los resultados de este trabajo no demuestran un efecto del rastrojo sobre la enfermedad para un largo período de años (> 10) sin cultivo de maní, en cierta medida puede ser debido a la baja densidad de inóculo en esos suelos.

La producción de teliosporas de *T. frezii* producto de las vainas carbonosas es elevada (Paredes et al., 2017b). En este estudio se observó una mayor intensidad de la enfermedad mientras menos años transcurrieron desde el último cultivo de maní en ese lote. La clasificación de los lotes en función del último cultivo de maní, no solamente indica el momento en el cual se sembró maní en ese lote, sino que además puede haber sido sembrado con maní en más de una ocasión en los últimos años. De esta manera, una mayor frecuencia de maní en el tiempo en un mismo lote puede multiplicar considerablemente el inóculo de *T. frezii* en el suelo. Lo mismo es observado en otros patógenos de suelo como *Sclerotium rolfsii*, donde se recomienda la siembra de maní en suelos con un bajo historial de ese cultivo para asegurar una baja carga de esclerocios en el suelo (March y Marinelli 2005).

La clasificación de los lotes en función de los años desde el último cultivo de maní permitió posicionar el análisis bajo el supuesto de una condición de inóculo similar, de este modo, observar las diferencias entre la intensidad de la enfermedad producto del efecto de las rotaciones. Bajo diferentes condiciones edáficas y ambientales, una densidad de inóculo similar puede resultar en diferentes niveles de intensidad de enfermedad (Katan 2017). Prácticas culturales de manejo del cultivo como las labranzas y las rotaciones, pueden influir en la intensidad de las enfermedades causadas por patógenos del suelo (Allmaras et al., 1988; Campbell 1994; Mazzola 2004). La rotación con diferentes cultivos puede reducir el

potencial inóculo de patógenos de suelo y con ello la intensidad de las enfermedades que producen en los principales sistemas agrícolas (Campbell 1994; Mathre et al., 1999; Bailey y Lazarovits 2003). La descomposición de los restos de rastrojo puede modificar los microorganismos de los suelos y el entorno edáfico donde se producen interacciones específicas. La participación del cultivo de maíz en la rotación de cultivos es importante, ya que aporta gran cantidad de sustrato para incrementar las poblaciones de microorganismos antagonistas de los hongos patógenos del suelo, principalmente en siembra directa (Vargas Gil et al., 2003). Las menores incidencias observadas en este estudio en los lotes con antecesor maíz pueden deberse a esos cambios a nivel de micro fauna edáfica.

Mathre et al., (1999) demostraron que incrementos en la productividad observada después de una secuencia de rotación de cultivos se debió a cambios en las poblaciones microbianas. En este sentido, diversas investigaciones buscan prevenir las enfermedades, actuando sobre el suelo e inactivando a los patógenos, mediante el agregados de diferentes compuestos (Mathre et al., 1999). De esta manera, el compost es un producto que logra reducir el impacto de enfermedades causadas por patógenos de suelo (Mehta et al., 2014). Termorshuizen et al., (2006) realizaron un estudio con 18 abonos comerciales en distintos patosistemas como *Verticillium dahliae* en berenjena, *Rhizoctonia solani* en coliflor y pino, *Phytophthora nicotianae* en tomate, *Phytophthora cinnamomi* en flores de lupino y *Cylindrocladium spathiphylli* en cala, *Fusarium oxysporum* sobre lino, entre otros, donde observaron que el 54 % de las aplicaciones fueron significativamente supresoras de la enfermedad y la supresión media de enfermedades por compost osciló entre 14 y 61 %. Para el carbón del maní, Serri et al., (2020) demostraron que la aplicación de enmiendas con biomasa de cáscara de maní, cenizas y biocarbón fueron capaces de modificar la actividad microbiana del suelo y también observaron efectos promisorios en el control del carbón del maní. Esto indica que la intensidad del carbón puede verse afectada por cambios en la microbiología de los suelos, como una posible respuesta a las variaciones en la intensidad de la enfermedad registradas en las diferentes secuencias de cultivo.

La mayoría de los factores físico-químicos no son independientes entre sí, lo que dificulta la planificación de los experimentos y la interpretación de los resultados. De esta manera, el inóculo de los patógenos presentes en el suelo, tienen que encontrar las condiciones climáticas y edáficas óptimas para lograr desarrollarse (Fiers et al., 2012). La cantidad y calidad de materia orgánica (MO) en un suelo tiene efecto sobre el desarrollo de



enfermedades (Alabouvette et al., 1996). Serri et al., (2018) observaron una correlación significativa para la incidencia e intensidad del carbón del maní respecto del carbono orgánico. A su vez, indicaron que las propiedades biológicas y químicas se asociaron al contenido de limo y arcilla del suelo. Asinari et al., (2020) también observaron que en suelos con contenido de MO mayor al 1,7 % existe una tendencia decreciente en el nivel de incidencia de carbón. En los resultados en este trabajo no se realizaron estudios de MO de cada lote en particular, sin embargo, las diferencias en las infecciones observadas entre antecesor soja o maíz, pueden estar asociadas al mayor volumen de residuos y materia orgánica generada que aporta el rastrojo de maíz. Para el manejo de *S. rolfsii*, se observan buenos resultados de control mediante el manejo cultural basado en las labranzas y la rotación de cultivos que incluyan maíz y sorgo (March y Marinelli 2005).

En la selección de lotes para la siembra de maní, los rastrojos de soja o maíz proveen características agronómicas y productivas diferentes (Haro 2015). En lotes que vienen de maíz, muchas veces es necesario un movimiento de suelo debido a la cantidad de rastrojo presente (Sergio Morichetti, *com. pers.*). No obstante, los sistemas que incrementan los volúmenes de rastrojo superficial y además la cama de siembra no es roturada (siembra directa) presentan mayor eficiencia en la captura de agua, atenúan la evaporación de agua desde el suelo, con lo que se dispone de mayor cantidad de agua durante el ciclo del cultivo (Haro 2015). En este sentido, Haro et al., (2001) reportaron que en un año con marcadas condiciones de estrés hídrico durante parte de la etapa vegetativa y reproductiva del maní, la siembra directa con antecesor maíz demostró tener el mejor comportamiento en la captura y aprovechamiento de los recursos, traducándose en incrementos del rendimiento. En este trabajo se observaron las menores intensidades de carbón con rastrojos de maíz, donde una mayor retención de agua podría estar influenciando la expresión de la enfermedad. Sin embargo, estos resultados son solo de una campaña agrícola, siendo interesante evaluar otros años para corroborar la consistencia de los resultados.

En la actualidad, los problemas sanitarios producidos por patógenos de suelo se manejan mediante el uso de diferentes enfoques integrados. La naturaleza compleja del suelo y su entorno, sugieren una combinación de estrategias, entre ellas las rotaciones de cultivo, para minimizar o prevenir los efectos de diferentes patógenos. Estos resultados sugieren evaluar los sistemas de rotación e incluirlos en las decisiones para una planificación estratégica en el manejo de la enfermedad.

## CONCLUSIONES

- Se observa un incremento significativo en la intensidad del carbón a medida que menos años transcurren desde la última siembra de maní
- Los restos de rastrojo tienen interacción en la expresión del carbón del maní
- Se observó menor enfermedad cuando el cultivo antecesor fue maíz comparado con el cultivo antecesor soja
- La rotación “Mz-Sj-Mz” registró menores niveles de enfermedad respecto a la rotación “Sj-Mz-Sj”
- El efecto de los diferentes restos de cultivos es significativo cuando menos años pasaron desde el último cultivo de maní (por mayor inóculo potencial de *T. frezii* en sus suelos)

## BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO

- Achuo, E. A., Prinsen, E., & Höfte, M. (2006). Influence of drought, salt stress and abscisic acid on the resistance of tomato to *Botrytis cinerea* and *Oidium neolycopersici*. *Plant pathology*, 55(2), 178-186.
- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. Quinta Edición. Elsevier Academic Press, London, UK. 922 p.
- Alabouvette, C., Hoepfer, H., Lemanceau, P., Steinberg, C. (1996). Soil suppressiveness to diseases induced by soilborne plant pathogens. En G. Stotzky, J-M, Bollag (Eds.) *Soil Biochemistry*, (371–413). New York, USA: Marcel Dekker
- Allmaras, R. R., Kraft, J. M., & Miller, D. E. (1988). Effects of soil compaction and incorporated crop residue on root health. *Annual review of phytopathology*, 26(1), 219-243.
- Aparicio, V., De Gerónimo, E., Guijarro, K. H., Pérez, D., Portocarrero, R., & Vidal, C. (2015). Los plaguicidas agregados al suelo y su destino en el ambiente. *INTA Ediciones, Argentina*, 1-74.
- Arias, S. L., Mary, V. S., Velez, P. A., Rodriguez, M. G., Otaiza-González, S. N., y Theumer, M. G. (2021). Where does the peanut smut pathogen, *Thecaphora frezii*, fit in the spectrum of smut diseases?. *Plant Disease*, 105(9), 2268-2280.
- Asinari, F., Monguillot, J.H., Paredes, J.A., Rago, A.M., Córdoba, M., Giannini, F. (2020). Suelos de la región manisera y variables biometeorológicas: Relación con la incidencia de *Thecaphora frezii* en el cultivo de maní. En XXXV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina.
- Astiz Gasso, M., & Wojszko, A. (2011). Evaluación *in vitro* de fungicidas curasemillas para el control químico del carbón del maní [*Thecaphora frezii*]. En XXVII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 60–62
- Astiz Gassó, M.M. (2017). *Histopatología de Ustilaginales (carbones) en poaceas de los géneros Sorghum, Bromus y Glyceria*. Tesis de doctorado no publicada, Universidad Nacional de La Plata. Buenos Aires, Argentina
- Astiz Gasso, M.M., Lovisoló, M., Mollá Kralj, A. (2010). Histopatología del carbon *Thecaphora frezii* en *Arachis hypogaea*. En XXV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina.
- Astiz Gassó, M., Marinelli, A.D. (2013). Biología de la germinación de *Thecaphora frezii* *in vitro*. En XXVIII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 23–24
- Aung, K., Jiang, Y., & He, S. Y. (2018). The role of water in plant–microbe interactions. *The Plant Journal*, 93(4), 771-780.
- Avanzini, G. V., Pérez, M.A. (2015). Análisis de medios de cultivo para la evaluación *in vitro* del crecimiento de carbón de maní. XXX Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina.
- Bailey, K. L., & Lazarovits, G. (2003). Suppressing soil-borne diseases with residue management and organic amendments. *Soil and tillage research*, 72(2), 169-180.

- Bidzinski, P., Ballini, E., Ducasse, A., Michel, C., Zuluaga, P., Genga, A., Chiozzotto, R. & Morel, J. B. (2016). Transcriptional basis of drought-induced susceptibility to the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1558.
- Bocco, M., Sayago, S., & Willington, E. (2014). Neural network and crop residue index multiband models for estimating crop residue cover from Landsat TM and ETM+ images. *International Journal of Remote Sensing*, 35(10), 3651-3663.
- Bongiovanni, R., Troilo, L.G., Fiant, S., Cuggino, S. (2017). Avances y estado de situación en Buenas Prácticas Agrícolas de maní. *Ciencia y Tecnología de los Cultivos Industriales: Maní*. (7-14). Córdoba, Argentina: INTA Ediciones
- Bongiovanni, R., Tuninetti, L., & Garrido, G. (2016). Huella de Carbono de la cadena de maní de Argentina. *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 42(3), 324-336.
- Boote, K. J. (1982). Growth stages of peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Peanut science*, 9(1), 35-40.
- Brustolin, R., Reis, E. M., & Pedron, L. (2016). Longevity of *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia on the soil surface under field conditions. *Summa Phytopathologica*, 42, 172-174.
- Camiletti, B. X., Paredes, J. A., Monguillot, J. H., Grosso, N. R., & Rago, A. M. (2021). Fungicide efficacy of nanocrystal-based formulations against peanut smut. *Crop Protection*, 143, 105522.
- Campbell, R. (1994). Biological control of soil-borne diseases: some present problems and different approaches. *Crop protection*, 13(1), 4-13.
- Cazón L.I., Paredes, J.A., Bisonard, M., Rago, A.M. (2016). Capacidad de infección de *Thecaphora frezii* en el tiempo. En XXXI Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. p. 52
- Cazón, L.I., Bisonard, M., Conforto, C., March, G., & Rago, A. (2013). Estrategias para el manejo del carbón del maní. En XXVIII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 28–30
- Cazón, L. I., Paredes, J. A., y Rago, A. M. (2018). The biology of *Thecaphora frezii* smut and its effects on argentine Peanut production. *Advances in Plant Pathology*. London: IntechOpen Ltd, 31-46.
- Chellemi, D. O., Gamliel, A., Katan, J., & Subbarao, K. V. (2016). Development and deployment of systems-based approaches for the management of soilborne plant pathogens. *Phytopathology*, 106(3), 216-225.
- Chuvieco, E. (1991). Fundamentos de teledetección espacial. *Estudios Geográficos*, 52(203), 371.
- Ciampagna, G., Del Boca, A., Molina, A., Tocchetto, F. (2018). Análisis de la evolución del área sembrada de maní en la provincia de Córdoba. En XXXIV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- Cignetti, M.I., Baldessari, J., Marraro Acuña, F., Mazzini, P.H. (2010). Evaluación multianual de cultivares de maní frente al carbón. En XXV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 20–22
- Cisneros, J.M., Giayetto, O., Cholaky, C.G., Cerioni, G.A., Cantero Gutiérrez, A., Uberto, M.E (2017). Suelos, rotaciones y labranzas. En Fernandez EM, Giayetto O (Eds.), *El*

- Cultivo del Maní en Córdoba*, 2da edn. (165 – 182). Río Cuarto, Argentina: Editorial de la Universidad
- de Torres-Zabala, M., Truman, W., Bennett, M. H., Lafforgue, G., Mansfield, J. W., Rodriguez Egea, P., & Grant, M. (2007). *Pseudomonas syringae* pv. tomato hijacks the Arabidopsis abscisic acid signalling pathway to cause disease. *The EMBO journal*, 26(5), 1434-1443.
- Echeverri-Rico, J., Petro, E., Fory, P. A., Mosquera, G. M., Lang, J. M., Leach, J. E., Lobaton J.D., Gabriel Garcés, G., Perafán, R., Amezcua, N., Toro, S., Mora, B., Cuasquer, J.B., & Torres, E. A. (2021). Understanding the complexity of disease-climate interactions for rice bacterial panicle blight under tropical conditions. *PLoS one*, 16(5), e0252061.
- Fiers, M., Edel-Hermann, V., Chatot, C., Le Hingrat, Y., Alabouvette, C., y Steinberg, C. (2012). Potato soil-borne diseases. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 93-132.
- Figueroa, A.C., Alasino, V.R., Beltramo, D.M. (2021). Aspectos morfológicos de teliosporas de *Thecaphora frezii*. En XXXVI Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- Genesio, F., Kearney, M., Zuza, M., Rago, A., Ochoa, J., Madaradoni, G., De Battista, V. (2017). Efecto de las precipitaciones y temperatura de suelo sobre la intensidad del carbón del maní. En XXXII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- Giayetto, O. (2017). Origen, historia y clasificación. En Fernandez E.M., Giayetto O. (Eds.), *El Cultivo del Maní en Córdoba*, 2da edn. (22-33). Río Cuarto, Argentina: Editorial de la Universidad
- Giayetto, O., Fernandez, E.M., Cerioni, G., Morla, F.D. (2017) Desarrollo. En Fernandez EM, Giayetto O (Eds.), *El Cultivo del Maní en Córdoba*, 2da edn. Río Cuarto, Argentina: Editorial de la Universidad
- Goel, A. K., Lundberg, D., Torres, M. A., Matthews, R., Akimoto-Tomiya, C., Farmer, L., & Grant, S. R. (2008). The *Pseudomonas syringae* type III effector HopAM1 enhances virulence on water-stressed plants. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 21(3), 361-370.
- Haro, R., Casini, C., Rainero, H., Salas, P., Lovera, E., Peiretti, J. (2001). Efecto de la siembra directa de maní, dentro de un sistema de labranza cero de soja y maíz, sobre la producción y calidad del grano apto para alimento humano. En XVI Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- Haro, R.J. (2015). Ecofisiología del cultivo de maní: su contribución al manejo del cultivo e interacción con el mejoramiento genético de maní. En: XXX Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 2-4
- Hu, D., Wang, C., Tao, F., Cui, Q., Xu, X., Shang, W., & Hu, X. (2014). Whole genome wide expression profiles on germination of *Verticillium dahliae* microsclerotia. *PLoS one*, 9(6), e100046.
- Kambiranda, D. M., Vasanthaiyah, H. K., Katam, R., Ananga, A., Basha, S. M., & Naik, K. (2011). Impact of drought stress on peanut (*Arachis hypogaea* L.) productivity and food safety. *Plants and environment*, 249-272.

- Katan, J. (2017). Diseases caused by soilborne pathogens: biology, management and challenges. *Journal of Plant Pathology*, 305-315.
- Klingebiel, A. A. (1958). Soil survey interpretation—capability groupings. *Soil Science Society of America Journal*, 22(2), 160-163.
- Kozak, M. (2009). What is strong correlation?. *Teaching Statistics*, 31(3), 85-86.
- Livingstone, D. M., Hampton, J. L., Phipps, P. M., & Grabau, E. A. (2005). Enhancing resistance to *Sclerotinia minor* in peanut by expressing a barley oxalate oxidase gene. *Plant Physiology*, 137(4), 1354-1362.
- M.A.GyP (2022) *Estimaciones Agrícolas*. Recuperado de: <http://datosestimaciones.magyp.gob.ar/reportes.php?reporte=Estimaciones>
- MacDonald, J. D. (1982). Effect of Salinity Stress on the Development of Phytophthora Root Rot of Chrysanthemum. *Phytopathology*, 72(2), 214-219.
- March G.J., Marinelli, A.D. (2005). Enfermedades del maní en la Argentina. Córdoba, Argentina: Bliglia Impresores.
- March, G.J., Oddino, C.M. y Marinelli, A.D. (2010). Manejo de enfermedades de los cultivos según parámetros epidemiológicos. Córdoba, Argentina: Bliglia Impresores. 193 pp.
- Marinelli, A., March, G. J., Rago, A., & Giuggia, J. (1998). Assessment of crop loss in peanut caused by *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. minor*, and *Sclerotium rolfsii* in Argentina. *International journal of pest management*, 44(4), 251-254.
- Marinelli, A., March, G., Rago, A.M. (1995). El carbón del maní *Thecaphora frezii* sobre *Arachis hypogaea* L. En 7° Congreso de Micología y 17° Jornadas Argentinas de Micología. Rosario, Santa Fe, Argentina. p. 134
- Marinelli, A., March, G.J., Oddino, C. (2008). Aspectos biológicos y epidemiológicos del carbón del maní (*Arachis hypogaea* L.) causado por *Thecaphora frezii* Carranza & Lindquist. *Agriscientia*, 25(1), 1-6.
- Marini, M. F., Vergara, M. F., & Krüger, H. (2007). Determinación del uso de la tierra en el partido de Guamini (Argentina) mediante un estudio multitemporal con imágenes Landsat. *Revista de Teledetección*, 27, 80-88.
- Mathre, D. E., Cook, R. J., & Callan, N. W. (1999). From discovery to use: traversing the world of commercializing biocontrol agents for plant disease control. *Plant Disease*, 83(11), 972-983.
- Mayek-Pérez, N., García-Espinosa, R., López-Castañeda, C., Acosta-Gallegos, J. A., & Simpson, J. (2002). Water relations, histopathology and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during pathogenesis of *Macrophomina phaseolina* under drought stress. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 60(4), 185-195.
- Mazzola, M. (2004). Assessment and management of soil microbial community structure for disease suppression. *Annual Review of Phytopathology*, 42, 35-59.
- Mehta, C. M., Palni, U., Franke-Whittle, I. H., & Sharma, A. K. (2014). Compost: its role, mechanism and impact on reducing soil-borne plant diseases. *Waste management*, 34(3), 607-622.

- Menzies, J. D. (1963). Survival of microbial plant pathogens in soil. *The Botanical Review*, 29(1), 79-122.
- Mukaka, M. M. (2012). A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi medical journal*, 24(3), 69-71.
- Murthy, C. S., Raju, P. V., & Badrinath, K. V. S. (2003). Classification of wheat crop with multi-temporal images: Performance of maximum likelihood and artificial neural networks. *International Journal of Remote Sensing*, 24(23), 4871-4890.
- Nieto, G. (2015). *Efecto del momento de infección de Thecaphora frezii sobre la incidencia y severidad de carbón de maní*. Tesis de grado no publicada, Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba, Argentina.
- Nolasco, M., Willington, E., & Bocco, M. (2015). Uso del suelo agrícola: comparación entre series temporales e imágenes satelitales individuales para su clasificación. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias-UNR*, (26), 017-021.
- Oddino, C., Marinelli, A., March, G., García, J., Tarditi, L., D'Eramo, L.Y., y Ferrari, S. (2010). Relación entre el potencial inóculo de *Thecaphora frezii*, la intensidad de carbón del maní y el rendimiento del cultivo. En XXV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 24-26
- Oddino, C., Marinelli, A., March, G., Zuza, M., & García, J. (2007). Evaluación regional de enfermedades de maní. Campaña 2006/07. XXII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina.
- Pandey, P., Irulappan, V., Bagavathiannan, M. V., & Senthil-Kumar, M. (2017). Impact of combined abiotic and biotic stresses on plant growth and avenues for crop improvement by exploiting physio-morphological traits. *Frontiers in plant science*, 8, 537.
- Paredes, J.A. (2017). *Importancia regional del carbón del maní (Thecaphora frezii) y efecto de ingredientes activos de fungicidas sobre la intensidad de la enfermedad*. Tesis de maestría no publicada, Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Argentina
- Paredes, J.A., Cazón, L.I., Bisonard, E.M., Rago, A.M. (2015a). Triazoles y estrobilurinas para el control de *Thecaphora frezii*. XXX Jornada Nacional de Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 70-72
- Paredes, J.A., Cazón, L.I., Bisonard, M., Edwards Molina, J.P., & Rago, A.M. (2015b). Uso de fungicidas para el control de *Thecaphora frezii* en ensayos a campo. XV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. p. 235
- Paredes, J. A., Cazon, L. I., Oddino, C., Monguillot, J. H., Rago, A. M., & Molina, J. E. (2021a). Efficacy of fungicides against peanut smut in Argentina. *Crop Protection*, 140, 105403.
- Paredes, J.A., Cazón, L.I., y Rago, A.M. (2017b). Incremento de inóculo potencial según intensidad del carbón del maní. En XIX Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Chile. p. 143
- Paredes, J. A., Edwards Molina, J. P., Cazón, L. I., Asinari, F., Monguillot, J. H., Morichetti, S. A. et.al. (2021b). Relationship between incidence and severity of peanut smut and its regional distribution in the main growing region of Argentina. *Tropical Plant Pathology*, 1-12.

- Paredes, J.A., Edwards Molina, J.P., Cazón, L.I., Bisonard, E.M., Rago, A.M. (2014) Alternativas tecnológicas de aplicación de fungicidas para el control de *Thecaphora frezii*. En XXIX Jornada Nacional de Maní. General Cabrera, Argentina
- Paredes, J. A., Cazón, L. I., Bima, M., Kearney, M. I., Nicolino, J. M., y Rago, A. M. (2017). Protocolo de toma de muestras y evaluación para un correcto relevamiento del carbón del maní. En XXIII Jornada Nacional de Maní. General Cabrera, Argentina, pp 59–61
- Paredes, J. A., Cazon, L. I., Oddino, C., Monguillot, J. H., Rago, A. M., y Molina, J. E. (2021a). Efficacy of fungicides against peanut smut in Argentina. *Crop Protection*, 140, 105403.
- Paredes, J.A., Asinari, F., Monguillot, J.H., Edwards, J.P., Oddino, C., y Rago, A.M. (2019). Incidencia del carbón del maní en función del inóculo de *Thecaphora frezii* en el suelo. En XXXIV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- Paredes, J.A., Cazón, L.I., Rago, A.M., Oddino, C., Soave, J., & S. Soave. (2017b). Determinación de la germinación de esporas de *Thecaphora frezii* sometidas a procesos industriales. XXXII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- Pedelini, R., y Monetti, M. (2018). *Maní. Guía práctica para su cultivo*. EEA Manfredi, INTA.
- QGIS Development Team (2022) QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>
- Rago, A. M., Cazón, L. I., Paredes, J. A., Molina, J. P. E., Conforto, E. C., Bisonard, E. M., y Oddino, C. (2017). Peanut smut: from an emerging disease to an actual threat to Argentine peanut production. *Plant Disease*, 101(3), 400-408.
- Ramegowda, V., Senthil-Kumar, M., Ishiga, Y., Kaundal, A., Udayakumar, M., & Mysore, K. S. (2013). Drought stress acclimation imparts tolerance to *Sclerotinia sclerotiorum* and *Pseudomonas syringae* in *Nicotiana benthamiana*. *International journal of molecular sciences*, 14(5), 9497-9513.
- Secretaría de ambiente (2014). *Ordenamiento Ambiental del Territorio*. Recuperado de: <https://secretariadeambiente.cba.gov.ar/ordenamiento-ambiental-del-territorio/>
- Serri, D.L., Guzzo, M.C., Bernardi Lima, N., Milesi, L., Andriulo, A., Fermanelli, C., Saux C., Meriles, J., Vargas Gi, S. (2020). Uso de biocarbón en la estimulación de la microbiota del suelo y el manejo del carbón del maní (*Thecaphora frezii*). En XXXV Jornada Nacional de Maní. General Cabrera, Argentina
- Serri, D.L., Paredes, J.A., Monguillot, J.H., Vargas Gil, S. (2018). Evaluación de la incidencia del carbón del maní y propiedades del suelo en respuesta a diferentes secuencias agrícolas. XVI Jornadas Fitosanitarias Argentinas
- Shahoveisi, F., Riahi Manesh, M., & del Río Mendoza, L. E. (2022). Modeling risk of *Sclerotinia sclerotiorum*-induced disease development on canola and dry bean using machine learning algorithms. *Scientific reports*, 12(1), 1-10.
- Shukla, A., Panchal, H., Mishra, M., Patel, P. R., Srivastava, H. S., Patel, P., y Shukla, A. K. (2014). Soil moisture estimation using gravimetric technique and FDR probe technique: a comparative analysis. *Am. Int. J. Res. Form. Appl. Nat. Sci*, 8, 89-92.



- Sinha, R., Irulappan, V., Mohan-Raju, B., Suganthi, A., & Senthil-Kumar, M. (2019). Impact of drought stress on simultaneously occurring pathogen infection in field-grown chickpea. *Scientific Reports*, 9(1), 1-15.
- SISA (2021) *Maní. 2020.2021*. Recuperado de:  
[https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sisa\\_if\\_maní\\_20\\_21.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sisa_if_maní_20_21.pdf)
- Smith, B. W. (1950). *Arachis hypogaea*. Aerial flower and subterranean fruit. *American Journal of Botany*, 802-815.
- Team R Development Core (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Termorshuizen, A. J., Van Rijn, E., Van Der Gaag, D. J., Alabouvette, C., Chen, Y., Lagerlöf, J., & Zmora-Nahum, S. (2006). Suppressiveness of 18 composts against 7 pathosystems: variability in pathogen response. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(8), 2461-2477.
- Thiessen, L. D., & Woodward, J. E. (2012). Diseases of peanut caused by soilborne pathogens in the Southwestern United States. *International Scholarly Research Notices*, 2012.
- Vara Prasad, P. V., Craufurd, P. Q., & Summerfield, R. J. (1999a). Sensitivity of peanut to timing of heat stress during reproductive development. *Crop Science*, 39(5), 1352-1357.
- Vara Prasad, P. V., Craufurd, P. Q., & Summerfield, R. J. (1999b). Fruit number in relation to pollen production and viability in groundnut exposed to short episodes of heat stress. *Annals of Botany*, 84(3), 381-386.
- Vargas Gil, S., March, G., Marinelli, A., Oddino, C., & Kearney, M. (2003). Influencia de la materia orgánica sobre la dinámica poblacional de microorganismos de biocontrol. En XVIII Jornada Nacional de Maní. General Cabrera, Argentina
- Wegulo, S., Giesler, L., Harveson, R., Jackson-Ziems, T. A., Liu, B., & Korus, K. (2013). Impacts of drought on disease development and management. *Plant Pathology Paper* 537. Univ. Nebraska–Lincoln
- Wei, T., Simko, V., Levy, M., Xie, Y., Jin, Y., & Zemla, J. (2021) R package “corrplot”: Visualization of a Correlation Matrix. *Statistician*, 56(316), e24.
- Whetzel, H.H. (1929) The terminology of plant pathology. *Proceedings of the international Congress of Plant Sciences: Ithaca, New York*. 1926:1204–1215
- Wiese, J., Kranz, T., & Schubert, S. (2004). Induction of pathogen resistance in barley by abiotic stress. *Plant Biology*, 6(05), 529-536.
- Wright, G. C., & Rao, R. C. (1994). Groundnut water relations. En *The groundnut crop* (pp. 281-335). Springer, Dordrecht.

### DISPERSIÓN DE TELIOSPORAS DE *Thecaphora frezii*

#### 5.1 DISPERSIÓN DE TELIOSPORAS DE *T. frezii* EN COSECHA

*“Modelar el flujo de dispersión de teliosporas por el viento durante la cosecha en condiciones de campo”*

*Parte de los resultados de este capítulo están publicados en formato preprint en AgriRxiv “Aerial dispersion of smut spores during peanut harvest”*

DOI: 10.31220/agriRxiv.2022.00135

#### INTRODUCCIÓN

El carbón de maní ha causado pérdidas significativas en la producción argentina de maní en los últimos años (Paredes 2017; Rago et al., 2017). La provincia de Córdoba es la responsable de más del 90 % de la producción de maní del país (Agüero 2017; Calzada y Rozadilla 2018). La masiva propagación de la enfermedad en la última década atenta contra la sustentabilidad de la producción primaria de maní en la provincia (Rago 2015).

*Thecaphora frezii* es un patógeno con la capacidad de sobrevivir en forma de teliosporas en el suelo por más de cuatro años (Cazón et al., 2016; Rago et al., 2017). Además las teliosporas son las estructuras de dispersión que pueden ser transportadas en semillas, maquinaria, o por el viento (Marinelli et al., 2010; Rago et al., 2017; Cazón et al., 2018). Las teliosporas permanecen libres en el suelo esperando el momento de interacción con el cultivo susceptible, el maní (*Arachis hypogaea*). La infección ocurre cuando el ginóforo o clavo penetra en el suelo, liberando exudados que estimulan la germinación de las teliosporas presentes el suelo (Arias et al., 2021). En ese momento, se producen cuatro basidiosporas haploides, que germinan para producir hifas haploides. Estas hifas de distinta polaridad se deben fusionar para producir una hifa dicariótica infectiva que penetra en el clavo y da comienzo a la infección (Arias et al., 2021).

Después de la infección, *T. frezii* invade los tejidos de los ovarios fecundados que, en la formación de las vainas, transformará los granos en una masa de teliosporas. Los síntomas del carbón pueden ser diversos, desde un pequeño soro en un grano hasta la transformación completa del grano en una masa de teliosporas, lo que determina las diferentes clases de severidad (Astiz Gasso et al., 2008; Rago et al., 2017). Las vainas severamente afectadas (SDP) es cuando hay al menos un grano completamente carbonoso en la vaina (Paredes et al., 2021a) Estas vainas carbonosas producen un alto número de teliosporas y son la principal fuente de inóculo para futuras epidemias (Paredes 2017). Las teliosporas, como propágulos de dispersión, pueden ser simples o multinucleadas (agrupadas en forma de glomérulos) (Carranza and Lindquist 1962; Arias et al., 2021).

Los cultivares de maní mayormente sembrados en el área manisera de Córdoba son susceptibles al carbón. El cultivar 'Granoleico' es altamente susceptible y actualmente el que ocupa más del 55 % del área total sembrada (SISA 2021). Los campos en la principal región manisera en la provincia de Córdoba presentan infecciones naturales de *T. frezii*, y desde la primera detección del carbón, la incidencia fue en creciente aumento (Asinari et al., 2019; Cazón et al., 2018). Además, a escala regional puede observarse una mayor intensidad de la enfermedad en los lotes cercanos a las fábricas de procesamiento de maní y áreas con un mayor historial en producción del cultivo (Paredes 2017; Paredes et al., 2021b).

La falta de adopción de estrategias de control del carbón, ha llevado a un aumento constante de la intensidad de la enfermedad en los últimos años (Paredes 2017; Rago et al., 2017). La selección de lotes de maní con bajos niveles de inóculo en el suelo puede ser uno de los métodos de manejo más eficientes para reducir el impacto del carbón (Rago et al., 2017). Sin embargo, esta práctica no es adoptada actualmente por los productores debido, entre otros factores, a la falta de adopción de métodos de diagnóstico cuantitativo específicos y rápidos, por ejemplo, qPCR, para identificar los niveles de inóculo en el suelo. A pesar de este hecho, la predicción del riesgo potencial de incidencia de carbón se podría estimar en función del conocimiento de la dispersión de las esporas como base de cultivos de maní sembrados con anterioridad en un mismo lote o en proximidad de lotes vecinos.

El principal mecanismo de propagación del carbón es la liberación de teliosporas de vainas infectadas que logran romperse durante el proceso de cosecha (**Figura 5.**). Sin embargo, no hay información sobre hasta qué punto las teliosporas de *T. frezii* pueden dispersarse durante la cosecha. Esta brecha de conocimiento motivó la planificación y conducción de este estudio observacional, donde se buscó modelar el flujo de dispersión de teliosporas por el viento durante la cosecha en condiciones de lote.



**Figura 5.1.** Polvo en suspensión generado por el avance de la maquinaria en la cosecha de maní.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Descripción de las áreas de estudio

Se realizaron seis experiencias en lotes de maní al momento de la cosecha, durante la campaña 2019-2020. Los sitios observacionales consistieron en lotes comerciales de maní, infestados naturalmente con *T. frezii*, ubicados en la provincia de Córdoba: lote 1 (Villa María,  $-32^{\circ} 28' 56,29''$  S,  $-63^{\circ} 8' 2,38''$  O), lote 2 (Ballesteros,  $-32^{\circ} 26' 50,84''$  S,  $-63^{\circ} 2' 1,58''$  O), lote 3 (Río Primero,  $-30^{\circ} 56' 57,67''$  S,  $-63^{\circ} 37' 11,19''$  O), lote 4 (Capilla de los remedios,  $-31^{\circ} 28' 2,99''$  S,  $-64^{\circ} 0' 28,44''$  O), lote 5 (Comechingones,  $-31^{\circ} 10' 59,11''$  S,  $-63^{\circ} 39' 35,97''$  O), lote 6 (Laguna Larga,  $-31^{\circ} 48' 34,46''$  S,  $-63^{\circ} 51' 50,09''$  O). El cultivar de maní 'Granoleico' fue el cultivar sembrado en todos los lotes.

### *Recolección de datos de campo en el momento de la cosecha*

Los registros meteorológicos se obtuvieron utilizando una estación Modelo WS1081 en cada uno de los sitios durante el período de toma de datos. Las variables que se incluyeron fueron: temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), humedad relativa (%), velocidad del viento ( $\text{km h}^{-1}$ ) y la dirección del viento (grados). Estos registros fueron recogidos en intervalos de 15 minutos (en los lotes 1 y 2) e intervalos de 5 minutos (en los lotes 3 a 6) durante el tiempo de cosecha.

La humedad del suelo se estimó mediante un método gravimétrico (Shukla et al., 2014). Las muestras de suelo consistieron en una mezcla de 30 piques recolectados mediante un barreno con recipiente colector (500 g aproximadamente) al azar en el centro del área de cosecha (aproximadamente 25 ha). Las muestras se pesaron y se secaron en horno a  $110^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. La humedad del suelo (expresada en porcentaje) se calculó por diferencia entre el peso seco y el húmedo.

Los tiempos de siembra y cosecha, la máquina cosechadora y la capacidad de cosecha diaria son presentados en Tabla suplementaria (**Tabla S 5.1**).

### *Evaluación de la enfermedad*

Las muestras para la evaluación del carbón de maní de cada lote se recolectaron en el momento de la cosecha. Se procedió a la recolección de todas las vainas producidas en cada planta en 1 metro lineal de surco, con cuatro estaciones de muestreo dentro de cada lote (Paredes et al., 2017a) Todas las vainas producidas en esa área de muestreo fueron evaluadas estimando la severidad de la enfermedad (Astiz Gasso et al., 2008). El carbón se caracterizó a través de las vainas severamente afectadas (SDP) como porcentaje de vainas con grados de severidad 3 y 4 (Paredes et al., 2021b) (Ver Capítulo 1).

### **Muestreo de dispersión espacial de teliosporas**

Las muestras aéreas se recogieron durante el momento de cosecha en los meses de junio-julio de 2020, de 12 a 17 h, dependiendo del lote y la hora de inicio de la cosecha. Trampas caza-esporas giratorias se confeccionaron utilizando una barra de suspensión y cinta adhesiva doble faz para la adherencia de las partículas. En cada trampa de esporas, se colocaron dos portaobjetos de vidrio (7,5 por 2,5 cm) en los extremos de barras suspendidas por cada colecta de tiempo, con dos cintas adhesivas de doble faz (2 por 1,8 cm) en cada portaobjeto. Todas las cintas adhesivas fueron abiertas para iniciar la colecta de esporas al momento de comenzar la cosecha. Al finalizar cada uno de los tiempos del muestreo, cada portaobjeto fue retirado y cubierto para evitar la adherencia de nuevas partículas.

Las trampas de esporas se colocaron a distancias de 100, 200, 300 y 400 m del área de cosecha (de ahora en adelante 0 m), siguiendo cuatro direcciones cardinales. Todas las trampas se colocaron y abrieron cuando comenzó la cosecha (tiempo 0). Luego, las muestras se recolectaron de acuerdo a los diferentes tiempos de medición: A: 0 – 90; B: 0 – 180; C: 0 – 270 minutos desde el inicio de la cosecha.

### *Conteo de teliosporas*

En laboratorio se realizaron los recuentos de teliosporas mediante observación por microscopía óptica 20X (ZEISS®). En cada una de las muestras se identificaron y cuantificaron las teliosporas de *T. frezii* atrapadas. El conteo se realizó en un área delimitada de 1,2 cm<sup>2</sup> por reconocimiento morfológico de las teliosporas de *T. frezii*.

## Proporción del tipo y tamaño de espora

Las proporciones de cada tipo de espora (espora uninuclear o multinuclear; **Figura 5.2**) fueron evaluadas en una muestra de teliosporas obtenidas de una vaina carbonosa grado 4, y en trampas cazaesporas a lo largo de las distancias de muestreo en uno de los lotes (Lote 6). Para la evaluación de la proporción del tipo de teliosporas dentro de una vaina carbonosa, se recolectó una muestra de 0,1 g de teliosporas y se diluyó  $1 \times 10^4$  veces en agua destilada. Se identificó y cuantificó cada tipo de teliosporas (1, 2, 3, 4 y 5 o más) contenidas en una gota de solución de 25  $\mu\text{l}$  y se calculó la proporción de cada tipo de teliosporas.

El recuento del tipo de teliosporas también fue realizado en los cazaesporas del lote 6 (con la velocidad de viento de mayor registro,  $6,5 \text{ m s}^{-1}$ ), a los 90 minutos de tiempo de colecta y a la dirección del viento.

Se realizó un análisis de chi cuadrado de Pearson para comparar las proporciones del tipo de espora en cada distancia de muestreo. Este análisis se realizó solo en el lote 6 en la colecta a 90 minutos, y para la dirección a favor del viento.

Para medir el tamaño de las esporas, se evaluaron 10 imágenes digitales de cada tipo de espora con el software ImageJ™ (Schneider et al., 2012) Las imágenes se convirtieron en imágenes binarias de 8 bits. Para cada imagen, la barra de escala se calibró para que coincidiera con la longitud de la escala ubicada dentro de la imagen y estableciera la relación píxel-eje en 1. Cada espora se midió dos veces en una dirección perpendicular con la función de análisis de medidas de ImageJ.



**Figura 5.2.** Tipos de teliosporas de *Thecaphora frezii*, desde esporas individuales de un solo núcleo hasta cinco unidades agrupadas como glomérulos (esporas multinucleadas). Cada tipo de espora corresponde a una unidad de propágulo de dispersión.

## **Patrones espaciales de la dispersión de teliosporas**

Los datos de cada localización de caza-espora individual se recolectaron a partir de los recuentos de dos portaobjetos por trampa con dos recuentos por portaobjetos cada uno que representa un área de 1,2 cm<sup>2</sup> para luego ser ajustado y representar al número de teliosporas por 1 cm<sup>2</sup> por cada tiempo de recolección y cada distancia. Todos los datos de dispersión de teliosporas para las seis ubicaciones experimentales presentaron dieciséis trampas de esporas (4 distancias × 4 puntos cardinales) y tres tiempos de observación en cada ubicación experimental respectivamente, totalizando 288 observaciones para el análisis.

Las ubicaciones de las trampas se convirtieron en coordenadas cartesianas, con ubicación "xy", en relación con el centroide de cada ubicación experimental respectivamente, asignando los “grados” según las direcciones cardinales y los metros desde los centroides, utilizando las funciones del paquete ‘geometry’ de R v0.4.5 (Habel et al., 2019)

La velocidad del viento se convirtió a m s<sup>-1</sup>, y la dirección del viento se convirtió a la dirección relativa a la trampa de esporas, donde: 0 sopla directamente en la trampa y 180 sopla en contra de la trampa durante el tiempo de observación, utilizando una función de promedio circular, ‘circular.averaging()’, de ‘SDMTools’ v1.1-221.2 (VanDerWal et al., 2014).

### *Ajuste y evaluación del modelo*

Se utilizó un modelo aditivo generalizado (GAM) para comparar la influencia de la ubicación de la trampa, la dirección del viento, el tiempo desde el inicio de la cosecha y la distancia desde el centroide del lote (ubicación experimental) como efectos aleatorios en la dispersión de teliosporas. Se seleccionó GAM para el análisis, ya que se ha utilizado previamente para modelar las interacciones de otros patógenos de plantas (Yee y Mitchell 1991; Sparks et al., 2011) y dispersión de esporas fúngicas (Khaliq et al., 2020). Los GAMs candidatos se ajustaron a los datos de dispersión aérea de teliosporas utilizando R a través de la función ‘gam()’ del paquete contribuido ‘mgcv’ 1.8-38 (Wood 2011). Los modelos se evaluaron para el mejor ajuste utilizando la función ‘gam.check()’ de ‘mgcv’ (Wood 2011), el Criterio de Información de Akaike (AIC) (Akaike 1974), el Criterio de Información



Bayesiana (BIC) (Gideon 1978), y los valores ajustados de  $R^2$  para el mejor GAM seleccionado.

El número medio de teliosporas por  $\text{cm}^2$  en cada trampa (agrupadas en todas las ubicaciones experimentales para los seis eventos, muestras y submuestras) se modeló en función de cuatro suavizantes, la interacción suavizada de las coordenadas cartesianas ( $x, y$ ) de las ubicaciones de las trampas de esporas a metros del centroide del lote de cosecha activo; los momentos temporales (*tiempo*: 90, 180 o 270 minutos después del inicio de la cosecha); el vector covariable asociado de la diferencia de *grados* en la dirección del viento en relación con las ubicaciones de las trampas; el vector covariable asociado de la *distancia* de cada trampa desde el centroide del lote de cosecha activo; y las pendientes para cada uno de los lotes de cosecha con la interacción suavizada del lote y la ubicación de la trampa como un valor "xy", durante cada uno de los eventos de dispersión. El modelo GAM que logró el mejor ajuste fue:

$$\text{gam}(\text{esporas} \sim s(y, x, k = 20) + s(\text{tiempo}, k = 3) + s(\text{grados}, k = 72) + s(\text{distancia}, k = 4) + s(\text{lote}, xy, bs = "re"), familia = "tw")$$

donde  $s$  son splines de placa delgada (TPS “thin plate spline”) independientes, que son los suavizadores predeterminados en los GAMs. Mayores especificaciones matemáticas de estas splines suavizantes se proporcionan en Wood (2011). La dimensión base para el suavizado se estableció manualmente utilizando el argumento  $k$ , que establece el límite superior en los grados de libertad asociados con cada uno de los respectivos suavizados en el modelo. Se proporcionan más grados de libertad a partir de más datos, por lo tanto, la diferencia en los grados de dirección del viento en relación con las trampas de esporas proporciona la mayor cantidad de grados de libertad ( $k = 72$ ), seguido de las ubicaciones de las trampas de esporas ( $k = 20$ ). Los otros dos predictores fueron más limitados con valores  $k$  más pequeños, *tiempo* ( $k = 3$ ) y *distancia* ( $k = 4$ ). La distribución “Tweedie” fue seleccionada debido a la cantidad de ceros sustancial, es decir, hay una gran probabilidad de que no se observen esporas (Dunn 2004; Hasan y Dunn 2010). El uso de la función 'tw()', pasada al parámetro de familia en la función 'gam()', significó que el parámetro de potencia  $p$ , que relaciona la varianza de Tweedie con su media, se estimó automáticamente a partir de los datos (Wood 2011). La función de enlace predeterminada para esta familia se suministró a la función 'gam()' como un enlace de logaritmo; y la función de enlace canónico o natural para las distribuciones de

Tweedie. Todos los análisis se realizaron utilizando R versión 4.1.2. La limpieza y el procesamiento de datos se realizaron utilizando los paquetes 'tidyverse' v1.3.1 (Wickham et al., 2019) y 'clifro' v3.2-5 (Videntes y cizallas 2015) para las ilustraciones de rosas de los vientos.

## RESULTADOS

### Intensidad del carbón, datos meteorológicos y humedad del suelo.

Se observaron diferentes niveles de carbón en cada lote (**Tabla 5.1**). Si bien las incidencias observadas registran rangos desde ~2 a 11,6 %, la mayor producción de teliosporas es generada en las vainas severamente afectadas (SDP). En este sentido el SDP % más bajo se registró para los lotes 1 y 2 (0,83 y 1,96, respectivamente). Los lotes 3 y 4 tuvieron el % SDP medios (5,67 y 5,25, respectivamente), mientras que los lotes 5 y 6 registraron los mayores valores (7,05 y 8,93, respectivamente).

**Tabla 5.1.** Estadísticas descriptivas para los parámetros del carbón de maní: incidencia de la enfermedad, índice de severidad de la enfermedad (DSI) y vainas severamente afectadas (SDP) para los seis sitios observacionales (lotes 1 a 6).

Sitios observacionales	Incidencia (%)			DSI (%)			SDP (%)		
	Media	DS	EE	Media	DS	EE	Media	DS	EE
Lote 1	2,27	1,12	0,32	1,18	0,52	0,15	0,83	0,31	0,09
Lote 2	4,13	0,90	0,26	2,34	0,66	0,19	1,96	0,75	0,22
Lote 3	6,21	2,24	0,68	4,91	2,19	0,66	5,67	2,49	0,75
Lote 4	7,50	4,29	0,98	5,44	3,21	0,74	5,25	3,72	0,85
Lote 5	11,61	6,96	1,64	8,71	4,85	1,14	8,93	5,30	1,25
Lote 6	8,92	5,48	1,41	6,75	3,99	1,03	7,05	3,54	0,91

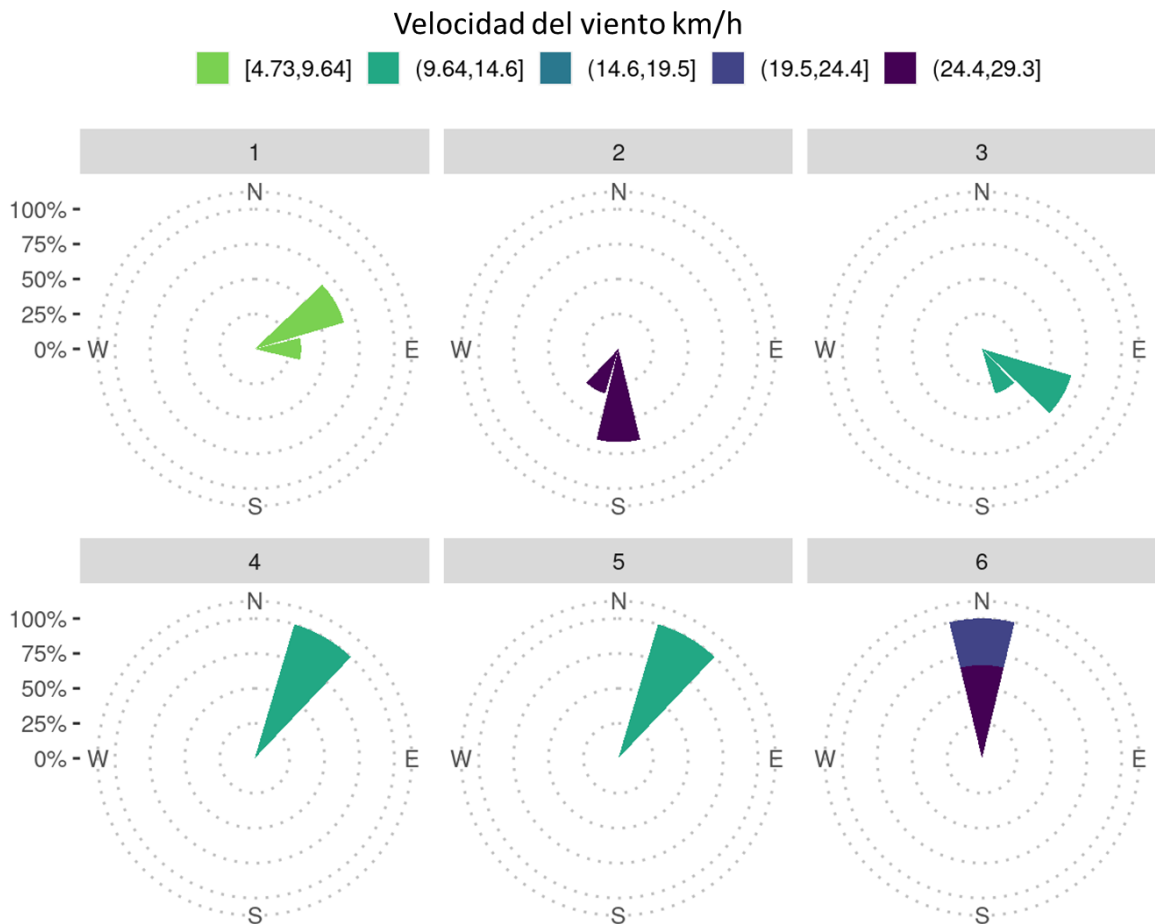
Los datos meteorológicos registrados durante las experiencias de lote en el momento de la cosecha se presentan en la **Tabla 5.2**, junto a los valores de humedad de suelo estimados en cada lote.

**Tabla 5.2.** Datos meteorológicos resumidos durante el momento de cosecha y toma de muestras, la humedad del suelo y las vainas severamente afectadas (SDP) para cada sitio observacional.

Sitio observacional	Humedad relativa (%)	Temperatura (°C)	Velocidad del viento (m s <sup>-1</sup> )				Ráfaga (m s <sup>-1</sup> )				Humedad del suelo (%)	SDP (%)
	Media	Media	Media	DS	min	máx	Media	DS	min	máx		
Lote 1	65,0	22,0	1,3	0,9	0,0	3,6	*	*	*	*	9,61	0,83
Lote 2	55,0	22,2	7,6	2,2	2,7	11,2	*	*	*	*	12,5	1,96
Lote 3	24,7	16,6	2,7	0,9	1,0	4,8	3,6	1,1	1,7	5,8	8,3	5,67
Lote 4	50,3	12,3	3,3	1,2	0,7	5,4	4,4	1,3	1,7	6,8	5,7	5,25
Lote 5	46,4	15,6	2,9	1,1	0,3	4,8	4,5	0,8	2,7	6,1	9,74	8,93
Lote 6	32,0	14,2	6,5	1,3	3,4	9,2	8,2	1,4	5,1	10,9	6,65	7,05

\* datos no registrados

La dirección y velocidad de viento en cada experiencia de colecta son graficadas en el siguiente esquema de rosa de vientos (**Figura 5.3**). El Lote 2 y el Lote 6 presentan las mayores velocidades de viento registradas (7,6 y 6,5 m s<sup>-1</sup>, respectivamente). Además, puede observarse la direccionalidad del viento para cada una de las experiencias.



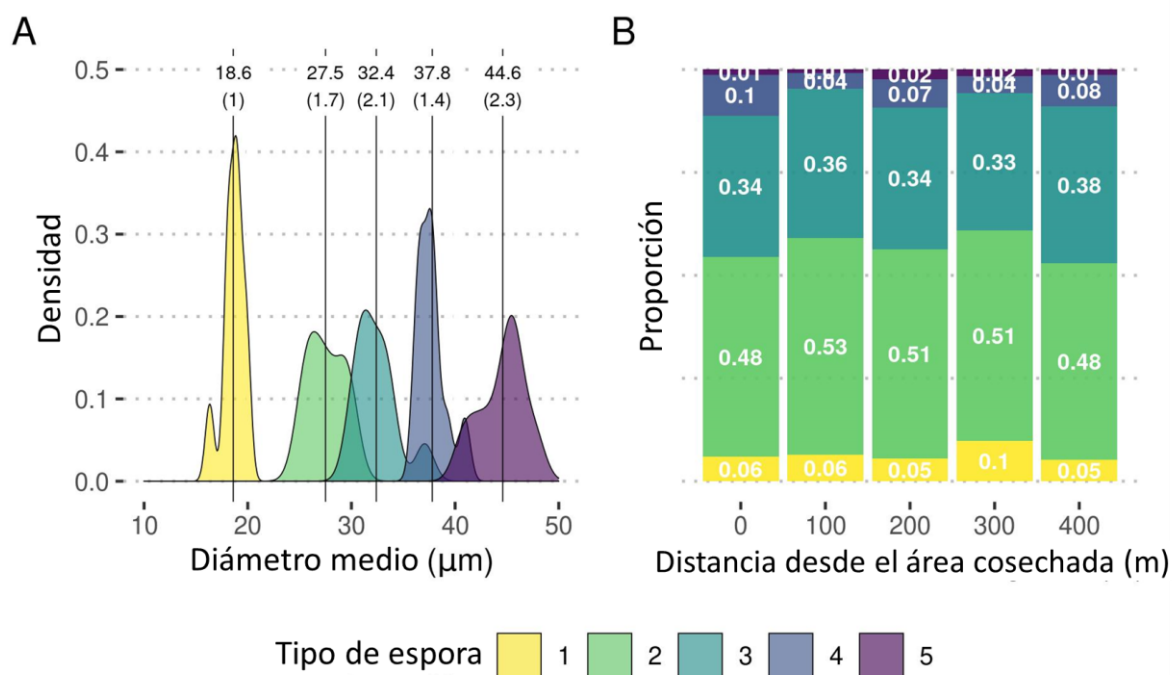
**Figura 5.3.** Ilustración de rosas de viento para todos los sitios observacionales (lotes), que muestra la velocidad y dirección del viento registradas en el momento de la cosecha de maní y toma de muestras. La notación [] representa un 'intervalo cerrado' que indica que el intervalo incluye valores inferiores y superiores, mientras que la notación (] representa 'intervalo semi abierto' que indica que el intervalo es exclusivo del valor inferior pero inclusivo del valor superior.

## Tamaño de la teliospora y proporción del tipo de espora

Luego de la observación de las teliosporas de *T. frezii*, el tamaño medio medido del tipo de espora de una sola unidad fue 18,6  $\mu\text{m}$ , mientras que para el tipo de esporas 5-multinucleares fue de 44,6  $\mu\text{m}$  (**Figura 5.4**).

La mayor proporción del tipo de teliosporas recolectadas de una vaina completamente carbonosa fue de glomérulos de dos y tres núcleos, con el 48 % y 34 % respectivamente. Menos del 0,06 % de los tipos de teliosporas eran esporas de un solo núcleo, y el 0,01 % eran esporas 5-multinucleadas.

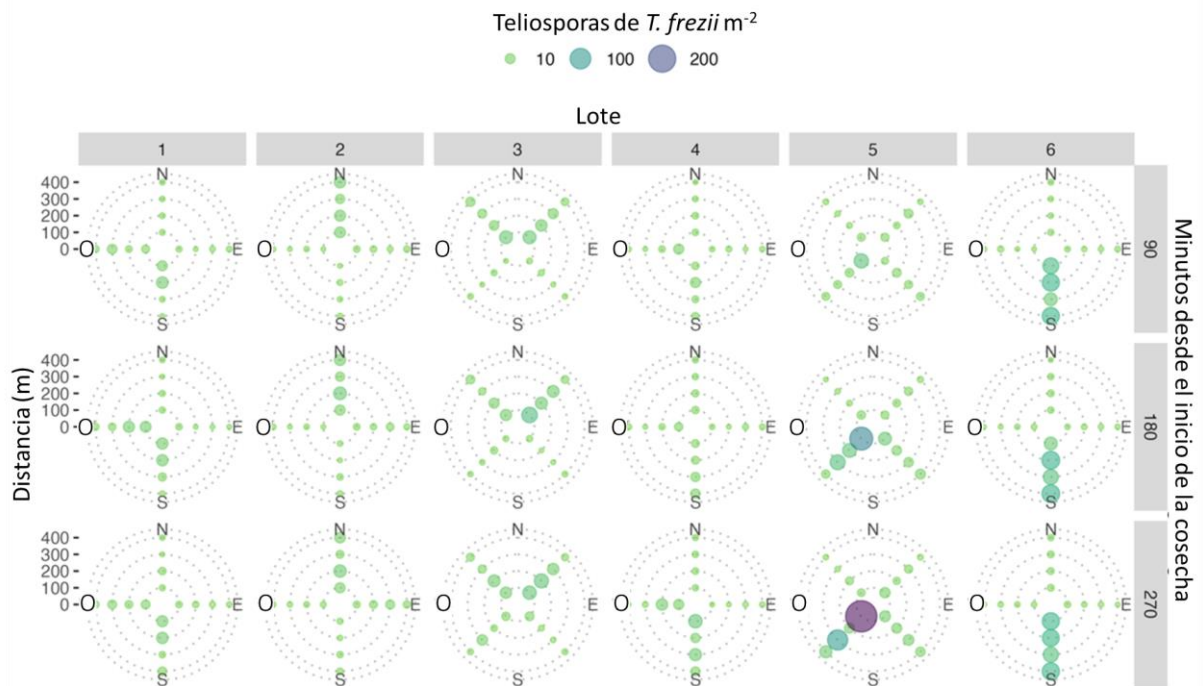
De la misma manera, la mayor proporción de tipos de esporas recolectadas de las trampas de esporas fueron teliosporas de dos y tres núcleos, a lo largo de todas las distancias de muestreo (**Figura 5.4**). No se observaron diferencias estadísticas en las proporciones de cada tipo de esporas a través de las distancias analizadas (chi-cuadrado de Pearson = 20,656; df = NA; p-valor = 0,1959).



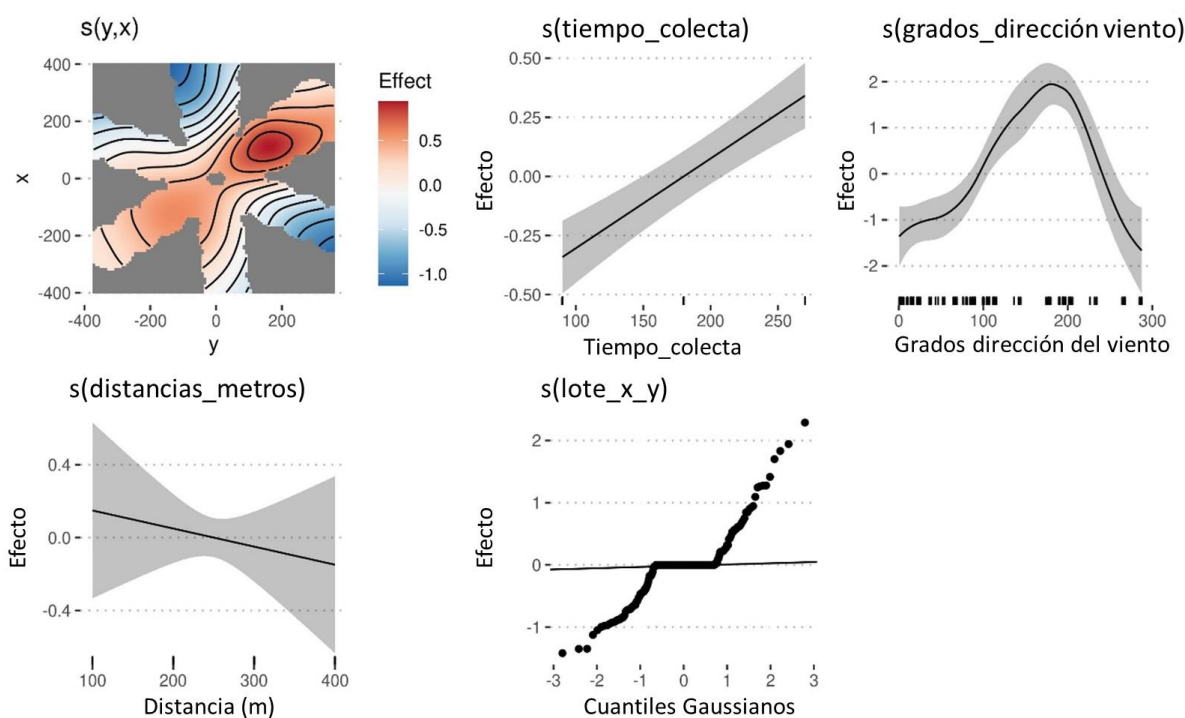
**Figura 5.4.** **A:** Diámetro medio y su desviación estándar para el tamaño de cada tipo de teliospora de *Thecaphora frezii* (número según núcleos agrupados como glomérulos). **B:** Proporción de cada tipo espora, para muestras recolectadas a favor del viento durante 90 minutos desde el inicio de cosecha, de 0 a 400 m de distancias desde el centroide del área de cosecha de maní.

## Dispersión por viento de las teliosporas de carbón durante la cosecha

Los modelos aditivos generalizados se ajustaron a los datos de dispersión de esporas (**Figura 5.5**) utilizando el paquete aportado, 'mgcv' (Wood 2011). El modelo de mejor ajuste se seleccionó en función de los valores de AIC, BIC y  $R^2$  y las comprobaciones diagnósticas de GAM, incluida la autocorrelación espacio-temporal. El valor ajustado de  $R^2$  fue de 0,791 con el modelo después de 15 iteraciones. Todos los factores predictivos incluidos fueron significativos en  $P < 0,05$  y los predictores suavizados indicaron un buen ajuste con los residuos distribuidos aleatoriamente y suficientes funciones de base para que se ajustaran adecuadamente. Observando otras gráficas diagnósticas, indicarían un ajuste adecuado del modelo a los datos (**Figura 5.6**).



**Figura 5.5.** Número medio de esporas dispersadas (teliosporas/cm<sup>2</sup>) registrados para cada lote de cosecha de maní a cada distancia, a 100, 200, 300 y 400 metros del centroide del lote de cosecha donde 'n' (indicado por el tamaño del punto) representa el número medio de esporas que quedaron atrapadas en ese lugar.



**Figura 5.6.** Modelo aditivo generalizado (GAM) adecuado para términos suavizados de cuatro predictores: ubicación de la trampa caza-esporas en relación con el centroide del lote de cosecha en coordenadas  $x$ ,  $y$  (m); tiempo de recolección de esporas de cada trampa (min); grado de dirección del viento en función de la ubicación de la trampa de esporas; distancia de la trampa de esporas (m) desde el centroide del área de cosecha; y los efectos aleatorios del lote y la ubicación de cada trampa de esporas para cada lote respectivamente.

## DISCUSIÓN

El proceso de cosecha de los lotes de maní afectados por carbón resulta en un importante mecanismo de dispersión de teliosporas de *T. frezii* de hasta al menos 400 m de distancia, siendo este trabajo el primer análisis espacio-temporal de dispersión de teliosporas de carbón por el viento. Estos resultados son relevantes para cuantificar el riesgo relativo de patógenos de cultivos propagados por esporas originarias de fuentes locales o distantes (Aylor 2017). El conocimiento resultante del análisis puede explicar la expansión del área infestada con teliosporas de *T. frezii* en la principal región de cultivo de Argentina (Asinari et al., 2019; Cazón et al., 2018; Paredes et al., 2021b; Rago et al., 2017).

La mayoría de los patógenos habitantes de suelo tienen un movimiento limitado (Katan 2017), propagándose a través de suelos infestados, o material de propagación de plantas

infectadas (por ejemplo, semillas, tubérculos, trasplantes, esquejes) o pueden ser transportados por herramientas y máquinas agrícolas, agua o viento (Katan 2017; Rekah et al., 1999). Curiosamente, *T. frezii* es un patógeno de suelo que infecta órganos subterráneos, pero con propagación aérea, principalmente a lotes circundantes a favor del viento durante la cosecha, como se observó en este estudio. Sin embargo, las semillas infectadas también pueden actuar como un vehículo de dispersión de esporas, incluso a largas distancias (Cazón 2015; Rago et al., 2017)

En menos de 15 años *T. frezii* se extendió por la principal región de cultivo en Argentina, limitando el rendimiento y la calidad del maní (Cazón et al., 2018; Paredes et al., 2021b). La introducción del carbón en nuevas áreas (sin cultivos de maní en los últimos años) sugiere el potencial de las teliosporas de *T. frezii* para iniciar una infección y desarrollar una epidemia con un umbral de inóculo muy bajo (Asinari et al., 2019; Paredes et al., 2019, 2021b), como se ha observado que lo hacen algunos patógenos de suelo que afectan al cultivo de la papa (Fiers et al., 2012). Por lo tanto, la intensidad de la enfermedad aumenta en función de los aumentos en inóculo regional (Rago et al., 2017), tal lo explican las enfermedades poliéticas (Bergamin Filho 1996).

El rol del viento en la dispersión de esporas de fitopatógenos está bien documentado (Hau y De Vallavieille-Pope 2006; Khaliq et al., 2020; McCartney y West 2007; Rieux et al., 2014). Los tamaños de los propágulos y su biología son componentes importantes en la propagación del inóculo (Norros et al., 2014). En general, las esporas más pequeñas pueden ser transportadas por el viento y extenderse distancias mayores que las esporas grandes. Sin embargo, la alta velocidad del viento y la turbulencia pueden modificar la deposición en el canopeo de los cultivos (Norros et al., 2014). En este estudio, el lote con la mayor velocidad del viento registrada ( $> 6,5 \text{ m s}^{-1}$ ; lote 6) resultó en un número similar de teliosporas recolectadas a favor del viento para las distancias de 100 a 400 m del área cosechada, demostrando similar distribución de las teliosporas de *T. frezii* colectadas dispersadas por el viento a través de las distintas distancias evaluadas. Era de esperarse que la mayor dispersión a través de las distancias evaluadas fuese del tipo de espora individual, la cual posee un tamaño de espora más pequeño ( $18,8 \mu\text{m}$ ), sin embargo, no se registraron diferencias estadísticas en la proporción de tipo de espora de 0 a 400 m a favor del viento ( $P = 0,1921$ ). Esto podría deberse al tamaño de las teliosporas de *T. frezii*, que son de mayor tamaño que la mayoría de las esporas en los estudios de dispersión de patógenos por el viento, en general inferiores a  $10 \mu\text{m}$



(Grewling et al., 2020). Por otro lado, las esporas más grandes (esporas en glomérulos 5 núcleos; 45,5  $\mu\text{m}$ ) se extendieron en la misma proporción a través de las distancias estudiadas. En las teliosporas producidas por vainas carbonosas, la mayor proporción de esporas registradas fueron de dos y tres núcleos. Esos dos tipos de esporas son similares en tamaño (mediana de 27,6 y 31,9  $\mu\text{m}$ , para esporas de 2 y 3 núcleos respectivamente), y se registraron con la misma proporción estadística a lo largo de las diferentes distancias transportadas por el viento. Patrones de dispersión similares se han observado en otros estudios de dispersión (Ingold y Hudson 1993). Las mayores velocidades del viento podrían conducir a distancias de dispersión más largas, como se informó para *Uncinula necator* en vid, en experimentos con túnel de viento (Willoquet et al., 1998).

Como era de esperar, cerca del área de cosecha se registró el mayor número de esporas a favor del viento, y a medida que fue aumentando la distancia, fue disminuyendo el número de esporas atrapadas. Lo mismo fue observado en otros estudios, donde una mayor proporción de detecciones positivas y un mayor número de esporas atrapadas se asociaron con las direcciones del viento (Munir et al., 2020). Otros autores señalan que generalmente se observa una acumulación del inóculo durante una epidemia, debido al aumento de la intensidad de la enfermedad en el lote de la enfermedad policíclica (Lichtemberg et al., 2021). En concordancia con este último, observamos un efecto significativo de la intensidad del carbón en lote sobre la cantidad de teliosporas colectadas a lo largo de las trampas. La misma observación fue anticipada por Munir et al., (2020), donde se detectaron con mayor frecuencia esporas de *Nothopassalora personata* cuando la incidencia de la enfermedad fue significativa.

Además de la distancia a una fuente de inóculo, muchos factores influyen en la variabilidad de las colectas de esporas en las trampas, incluida la estocasticidad de la turbulencia del aire, la velocidad y la dirección en relación con las fuentes de inóculo (Munir et al., 2020; Rogers et al., 2009; Villari et al., 2017). Las teliosporas de *T. frezii* atrapadas a favor del viento en el lote 5 fueron menores en la trampa a 200 m que a 300 m. Esto puede ser causado por la turbulencia del viento que deposita esporas de una manera no lineal. Como el aire es considerado un fluido, el flujo puede ser “laminar” donde las moléculas de aire siguen caminos paralelos, o “turbulento” donde el flujo es más caótico y las partículas siguen caminos diferentes, aunque en la misma dirección general (McCartney y West 2007).

Muchos estudios confirman el impacto de la dispersión por el viento del inóculo fúngico en la epidemiología de las enfermedades de plantas. La dispersión del inóculo externo es fundamental para el desarrollo de epidemias en varios patógenos vegetales en la agricultura (Hau y De Vallavieille-Pope 2006; El Jarroudi et al., 2020). Royas del trigo por ejemplo (*Puccinia triticina*, *P. striiformis*, y *P. graminis*) de gran importancia en la agricultura, pueden propagarse fácilmente a largas distancias utilizando el viento como medio de dispersión de sus esporas (El Jarroudi et al., 2020). Por otro lado, en otros patosistemas estudiados, fuentes externas de inóculo son de baja importancia epidemiológica, y el inóculo primario producido en el lote es el de mayor importancia como la podredumbre morena (*M. fructicola*) en huertos de duraznos (Lichtemberg et al., 2021). Para el carbón de maní tanto el inóculo que se ha producido en el lote, como el inóculo externo que proviene de otros lotes, son epidemiológicamente significativos al ser las teliosporas de *T. frezii* esporas de resistencia y acumularse en los suelos como enfermedad poliética (Rago et al., 2017).

Las esporas de muchos patógenos fúngicos se liberan pasivamente del huésped por el viento (por ejemplo, *Puccinia* spp., *Ustilago* spp., *Drechslera* spp.), en contraste, algunos patógenos liberan activamente sus esporas de forma independiente, utilizando mecanismos como los desencadenados por la humectación o el secado del hongo o del huésped, muchas veces asociados a cambios en la irradiancia, la temperatura del aire o la humedad relativa (por ejemplo, conidios de *Pyricularia oryzae*, basidiosporas de *Cronartium ribicola*). Otros patógenos necesitan mecanismos pasivos para eliminar las esporas de las superficies, como la dispersión por salpicaduras (Aylor 1990). Para el carbón del maní, la liberación de esporas de las vainas carbonosas solo ocurre cuando se produce la cosecha. En los síntomas de las vainas severamente afectadas (SDP), el grano se transforma completamente en una masa de teliosporas y tiene un alto impacto en el aumento del inóculo, al romperse y liberarse en la cosecha (Paredes et al., 2017b). Las vainas severamente afectadas representan más del 80 % en la infección por carbón y son las más importantes en la producción de teliosporas (Paredes et al., 2021b). Este trabajo confirma que las teliosporas de *T. frezii* son transportadas por el viento cuando las vainas infectadas se rompen durante el proceso de cosecha. Esto corrobora la observación de Rago et al., (2017), quienes afirman que los programas de manejo de enfermedades deben tener en cuenta la fácil propagación del inóculo a distancias cortas de los lotes infestados. Además de esperarse futuros incrementos debido a la falta de adopción de prácticas de manejo para el control del carbón (Cazón et al., 2018; Paredes et al., 2021a; Rago et al., 2017).

La dispersión de las teliosporas de *T. frezii* está influenciada por la velocidad del viento durante la cosecha de maní y esta propagación de teliosporas disminuye a mayores distancias desde el área cosechada. Este trabajo conduce a comprender un componente fundamental del ciclo del carbón del maní y su epidemiología, por lo tanto, permite diseñar estrategias de manejo de la enfermedad, por ejemplo, evitando la cosecha en días ventosos, más aún si se cuenta con el registro de carbón en el lote.

## CONCLUSIONES

- Las teliosporas de *T. frezii* son vehiculizadas por el viento
- La dirección y velocidad del viento influye positivamente en la dispersión de las teliosporas de *T. frezii*
- No se observaron diferencias en la dispersión según el tamaño o tipo de teliosporas
- La cosecha de maní es un momento fundamental en la dispersión del patógeno, logrando la propagación de las teliosporas en el mismo lote o lotes vecinos
- Las teliosporas logran dispersarse por el viento hasta al menos 400 m desde el área cosechada, siendo la dispersión dependiente de la velocidad del viento durante la cosecha

## 5. DISPERSIÓN DE TELIOSPORAS DE *Thecaphora frezii*

### 5.2 DISPERSIÓN DE LAS TELIOSPORAS DE *Thecaphora frezii* EN ESCALA REGIONAL

*“Evaluar la dispersión espacio-temporal de teliosporas de T. frezii en escala regional, valorando la importancia de las plantas de procesamiento de maní como fuente de dispersión de teliosporas”*

#### INTRODUCCIÓN

Diversas características permiten a los patógenos cumplir con los procesos de dispersión de sus esporas durante su ciclo. De esta manera, algunos permiten la liberación de propágulos al ambiente bajo procesos dinámicos asociados a cambios en la temperatura o la humedad, como los conidios de *Pyricularia oryzae* (Aylor 1990), otros son favorecidos por el transporte por semilla (Baker y Smith 1966) como *Ustilago tritici* en trigo y *U. nuda* en cebada (Piepenbring et al., 1998), algunos son dispersados por gotas de agua como conidios de *Ascochyta rabiei* (Khaliq et al., 2020) y algunos tienen la capacidad de ser dispersados por viento, por ejemplo *Puccinia* spp., *Ustilago* spp., *Drechslera* spp (Aylor 1990). Para el carbón del maní, las teliosporas son liberadas cuando las vainas carbonosas logran romperse, contaminando suelos, maquinaria o semilla, además son dispersadas por el viento al ser estructuras de tamaño reducido (~ 40 µm) (Marinelli et al., 2010; Rago et al., 2017).

El carbón del maní (*Thecaphora frezii*) fue reportado en Argentina por primera vez en el año 1995 en lotes comerciales en las localidades de Pampayasta, Villa Ascasubi y Ticino en la provincia de Córdoba (Marinelli et al., 1995). Desde entonces la prevalencia e incidencia de la enfermedad fue en creciente aumento (Marinelli et al., 2010; Paredes 2017; Rago et al., 2017; Asinari et al., 2019; Paredes et al., 2021b). La colonización produce hipertrofia en el fruto, transformando internamente los granos en masas carbonosas de teliosporas (Astiz Gasso et al., 2008; Marinelli et al., 2008). Estas teliosporas son liberadas al ambiente en el momento de la cosecha, incrementando significativamente la cantidad de inóculo de ese lote. Además, *T. frezii* es un patógeno habitante de suelo, cuyas teliosporas son estructuras de resistencia que

permanecen viables en los suelos hasta al menos cuatro años (Cazón et al., 2016). En este sentido, el carbón del maní presenta características distintivas en su comportamiento epidemiológico: es una enfermedad monocíclica, ya que no hay inóculo secundario producido durante una misma estación de cultivo (aunque hay un aporte continuo de teliosporas que incrementan el inóculo permanentemente), y poliética, al producir una acumulación progresiva de inóculo durante un período de años (Bergamin Filho 1996; Arneson 2001; Rago et al., 2017).

La producción de maní se realiza principalmente en la provincia de Córdoba, donde las características propias de la enfermedad y la dinámica de producción, favorecieron la dispersión del patógeno en la región, alcanzando un 100 % de prevalencia para el año 2012 (Cazzola et al., 2012). Relevamientos de la situación sanitaria del carbón lograron determinar zonas con diferente presión de enfermedad, donde los menores registros se observaron en la región sur de la provincia (departamento General Roca), mientras que las mayores intensidades se ubicaron en la región centro-norte (Departamentos Juárez Celman, Tercero Arriba). Esta región cuenta con una gran cantidad de años de cultivo de maní y además se ubica la mayoría de las industrias procesadoras de grano, que actúan como un centro de dispersión de esporas contaminando los lotes cercanos a las plantas de procesamiento (Marinelli et al., 2010; Rago et al., 2017; Asinari et al., 2019; Paredes et al., 2021b).

Características propias de la producción de maní, facilitan la dispersión de las teliosporas de carbón. Entre ellas se encuentra la producida por las industrias, donde vainas carbonosas son llevadas a las plantas de procesamiento, y en los procesos de descapotado e industrialización, pueden ser liberadas grandes cantidades de teliosporas, actuando como foco de dispersión. Hasta el momento es poca la información del rol que cumplen las industrias en este proceso, por tal motivo se plantea evaluar la dispersión espacio-temporal de teliosporas de *T. frezii* en escala regional, valorando la importancia de las plantas de procesamiento de maní como fuente de dispersión de teliosporas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Descripción de las áreas de estudio

Se seleccionaron tres sitios observacionales correspondientes a las industrias procesadoras de maní – localidad: “Servicios Agropecuarios” – Hernando ( $-32^{\circ} 26' 17.2''$  S,  $-63^{\circ} 42' 50.9''$  O); “AGD” – General Deheza ( $-32^{\circ} 45' 07.9''$  S,  $-63^{\circ} 46' 33.1''$  O); “Golden Peanut” – Alejandro Roca ( $-33^{\circ} 19' 38.3''$  S,  $-63^{\circ} 42' 54.0''$  O). Dichas industrias fueron seleccionadas en función de la localización y la intensidad de la enfermedad dada por relevamientos sanitarios del carbón, donde en Hernando y General Deheza el riesgo por la intensidad regional de la enfermedad es mayor que en Alejandro Roca (Asinari et al., 2019).

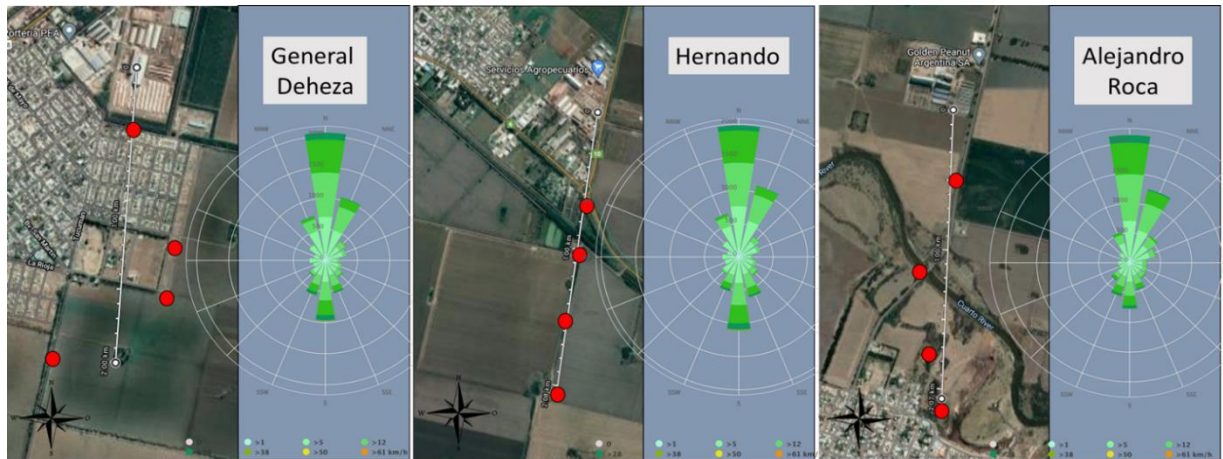
El patrón de vientos (dirección y velocidad y frecuencia de ambas) durante los meses de estudio fueron analizados según registros históricos ("*Meteoblue*", s.f.) en cada sitio observacional (**Figura 5.7**).

### Muestreo de dispersión espacial de teliosporas

Para cada ambiente de estudio, cuatro cazaesporas fueron colocados en dirección sur (vientos predominantes) a 500, 1.000, 1.500 y 2.000 m desde el centro de cada industria (foco de dispersión). Trampas pasivas basadas en la deposición de teliosporas fueron colocadas a 50 cm de suelo, y consistían en dos portaobjetos de vidrio ( $7,5 \times 2,5$  cm) en posición horizontal, con dos cintas adhesivas de doble faz ( $2 \times 1,8$  cm) por cada portaobjeto, totalizando cuatro unidades de observación por cada punto de colecta.

La colecta de datos fue realizada durante el período comprendido entre el 22/12/2020 al 4/03/2021, definiendo la finalización de las colectas de esporas en el mes de marzo por la superposición con el inicio de labores de cosecha, situación que podría contaminar las muestras, dificultando un correcto procesamiento de los datos. Las colectas se realizaron aproximadamente cada 15 días, en cinco fechas: 06/01, 21/01, 3/02, 19/02 y el 04/03. En cada período se retiraban los portaobjetos colectores de teliosporas, y se colocaban nuevos hasta la próxima fecha de colecta. La temporalidad fue evaluada tomando en base al día 22 de diciembre como día 1, y el día 04 de marzo como día 72.

En las fechas de extracción de datos, cada portaobjeto fue retirado para ser procesado en laboratorio, contabilizando las teliosporas mediante observación a microscopio (20X; ZEISS®). El recuento de teliosporas de cada unidad de observación fue realizado mediante reconocimiento morfológico, identificando las teliosporas de de *T. frezii* adheridas en una superficie delimitada de 1,2 cm<sup>2</sup>.



**Figura 5.7.** Vientos predominantes y ubicación de trampas cazaesporas (puntos rojos) a diferentes distancias de industrias maniseras en General Deheza, Hernando y Alejandro Roca

### Análisis de datos

El recuento de cada lectura de cada portaobjeto fue ajustado para representar al número de teliosporas capturadas por cm<sup>2</sup>.

Para cada sitio de observación fue calculado el número de teliosporas que se incorporan al suelo, como consecuencia del transporte y deposición, según la siguiente fórmula:

$$\text{Incremento de esporas (teliosporas g}^{-1} \text{ de suelo)} = n/\text{DAP}$$

donde n es el promedio de los conteos totales de teliosporas capturadas (cm<sup>2</sup>), DAP es la densidad aparente del suelo (g cm<sup>-3</sup>) en los primeros cm del perfil, estimada a través del porcentaje de arcilla, limo y arena según la carta de suelo correspondiente a cada sitio (**Tabla S 5.1**), siendo 1,57, 1,52 y 1,4 para Alejandro Roca, General Deheza y Hernando respectivamente (Sistema Suelo, s.f.; Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2021).

### *Ajuste y evaluación del modelo*

Fue utilizado un modelo aditivo generalizado (GAM) para modelar el efecto de la distancia (ubicación) de las trampas y el momento de las capturas de esporas en la dispersión generada por las plantas de procesamiento. Los análisis se realizaron utilizando R (Team R Development Core 2018), mediante la función ‘gam()’ del paquete ‘mgcv’ 1.8-38 (Wood 2011).

Los GAMs fueron evaluados para seleccionar el modelo de mejor ajuste, utilizando la función ‘gam.check()’, el valor ajustado de  $R^2$  y REML (Restricted maximum likelihood) (Gurka, 2006; Kassambara, 2018).

El número medio de teliosporas capturadas por  $\text{cm}^2$  fue modelado en función de dos suavizantes: la distancia desde las plantas de procesamiento (*estación*) y los días de recolección de muestras (*tiempo*). Además, fue incorporado como efecto aleatorio el sitio correspondiente a cada industria (*loc*). El modelo GAM que logró el mejor ajuste fue:

$$\text{gam}(\text{esporas\_cm}^2 \sim s(\text{estación}, k = 4) + s(\text{tiempo}, k = 5) + s(\text{loc}, \text{bs} = "re"), \\ \text{familia} = "quasipoisson")$$

donde  $s$  son los suavizadores predeterminados en los GAMs (splines de placa delgada; TPS “thin plate spline”). La dimensión base para el suavizado fue establecida manualmente utilizando el argumento  $k$ , según el límite superior en los grados de libertad asociados a cada uno de los respectivos suavizados en el modelo. Un mejor ajuste fue al agregar la distribución “*quasipoisson*” en el modelo, seleccionada al corroborar sobredispersión de la varianza observada mayor que la varianza de un modelo teórico (Gelman y Hill 2006).



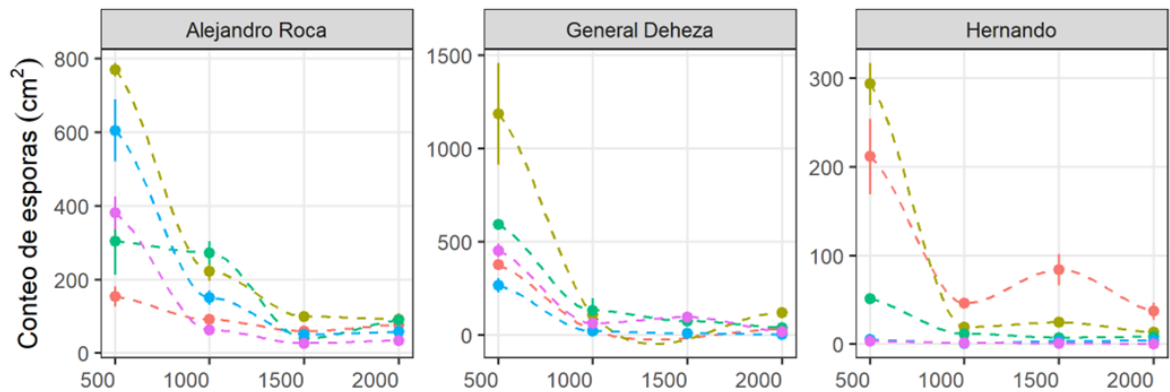
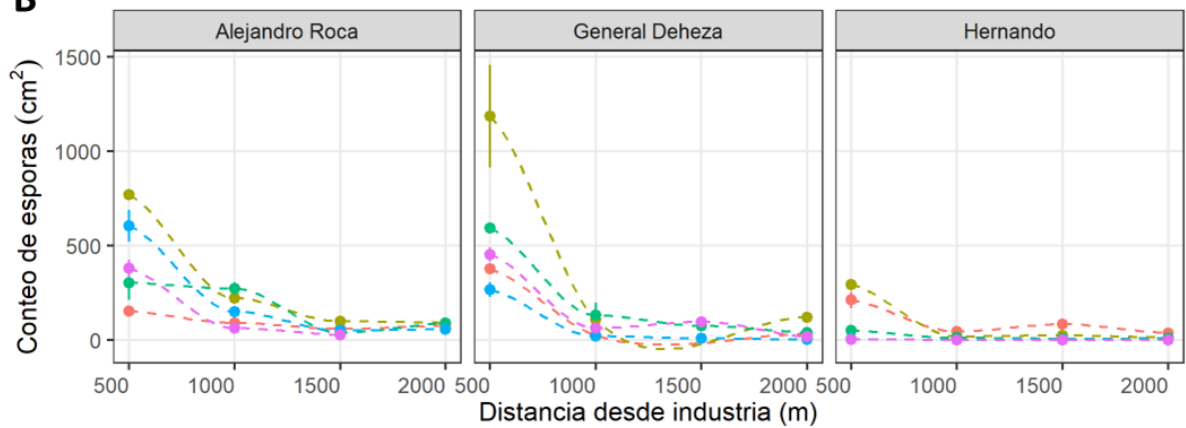
## RESULTADOS

Los menores conteos de teliosporas de *T. frezii* fueron en el sitio Hernando, seguido por Alejandro Roca, y el mayor recuento global de teliosporas fue en General Deheza. Los mayores conteos de teliosporas fueron colectados a los 500 m desde las industrias para los tres sitios de observación, disminuyendo las capturas a los 2.000 m en dirección de los vientos predominantes (**Tabla 5.3, Figura 5.8**). El mayor registro de teliosporas fue observado en General Deheza a 500 m con un promedio de 1.185 teliosporas cm<sup>-2</sup> el 21 de enero.

**Tabla 5.3.** Media del número de teliosporas de *T. frezii* colectadas en trampas cazaesporas y su error estándar, para las diferentes distancias de industrias maniseras de Alejandro Roca, General Deheza y Hernando en cinco fechas de colecta.

Localización de la industria	Fecha de colecta	500 m		1000 m		1500 m		2000 m	
		Media	E.E.	Media	E.E.	Media	E.E.	Media	E.E.
<i>Alejandro Roca</i>	06/01/21	<b>154</b>	27,4	<b>91</b>	4,54	<b>60</b>	6,06	<b>77</b>	5
	21/01/21	<b>770</b>	18,15	<b>222</b>	26,13	<b>99</b>	14,16	<b>91</b>	17,08
	03/02/21	<b>304</b>	90,67	<b>273</b>	31,51	<b>40</b>	3,43	<b>90</b>	3,33
	19/02/21	<b>605</b>	84,19	<b>151</b>	19,92	<b>50</b>	6,57	<b>58</b>	6,02
	04/03/21	<b>381</b>	45,03	<b>63</b>	4,97	<b>27</b>	2,6	<b>43</b>	1,1
	<b>Total</b>	<b>2214</b>		<b>800</b>		<b>276</b>		<b>350</b>	
<i>General Deheza</i>	06/01/21	<b>377</b>	21,66	<b>26</b>	4,63	-	-	<b>31</b>	3,54
	21/01/21	<b>1185</b>	272,29	<b>109</b>	3,41	-	-	<b>120</b>	8,26
	03/02/21	<b>593</b>	18,3	<b>132</b>	65,42	<b>76</b>	26,95	<b>40</b>	13,97
	19/02/21	<b>267</b>	38	<b>21</b>	0,63	<b>9</b>	1,85	<b>2</b>	0,21
	04/03/21	<b>453</b>	36,51	<b>63</b>	7,72	<b>97</b>	3,09	<b>18</b>	2,16
	<b>Total</b>	<b>2875</b>		<b>351</b>		*		<b>211</b>	
<i>Hernando</i>	06/01/21	<b>212</b>	42,66	<b>46</b>	3,48	<b>84</b>	17,59	<b>37</b>	9,66
	21/01/21	<b>294</b>	23,49	<b>19</b>	3,95	<b>25</b>	3,2	<b>13</b>	1,75
	03/02/21	<b>51</b>	2,08	<b>12</b>	1,56	<b>7</b>	0,92	<b>8</b>	0,83
	19/02/21	<b>5</b>	0,59	<b>1</b>	0,52	<b>3</b>	1,24	<b>4</b>	1,04
	04/03/21	<b>3</b>	0,4	<b>1</b>	0,92	<b>1</b>	0,34	<b>0</b>	0,21
	<b>Total</b>	<b>565</b>		<b>79</b>		<b>120</b>		<b>62</b>	

\* valor no calculado por ausencia de registros

**A****B**

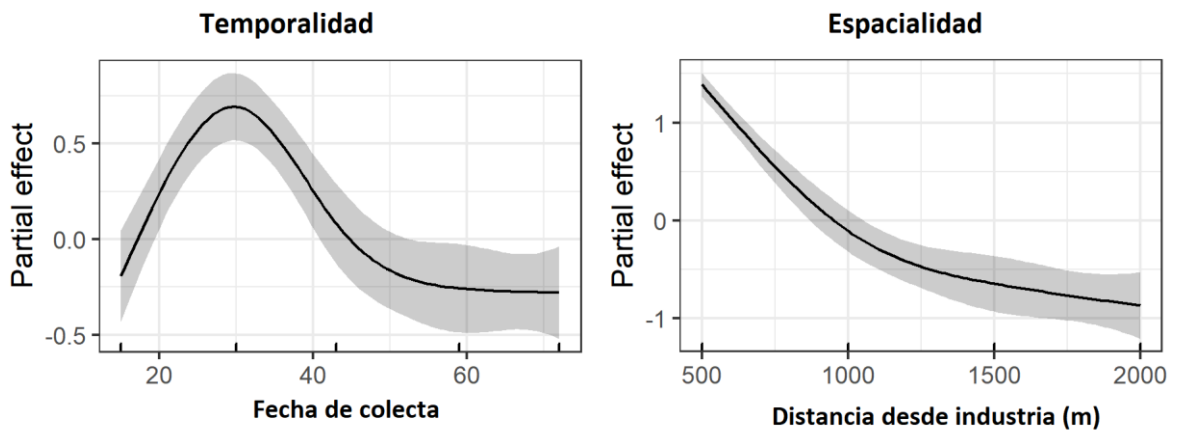
—●— 06-Ene —●— 21-Ene —●— 03-Feb —●— 19-Feb —●— 4-Mar

**Figura 5.8.** Gráfico de dispersión de las teliosporas colectadas en diferentes tiempos de colecta y a diferentes distancias desde las industrias procesadoras de maní de Alejandro Roca, General Deheza y Hernando. Los puntos representan la media de las observaciones y las barras su error estándar. **A:** Cada industria presenta su propia escala (eje “y”) para observar las diferencias colectas en cada industria. **B:** Misma escala para cada una de las industrias, comparando las diferencias en las colectas de cada industria.

Durante el período analizado (22 de diciembre al 4 de marzo; 72 días), a 500 m de distancia desde las plantas de procesamiento en dirección del viento, las teliosporas adicionadas al suelo fueron de 4.370, 3.476 y 565 teliosporas  $g^{-1}$  de suelo, para General Deheza, Alejandro Roca y Hernando, respectivamente. Por su parte, las estimaciones a los 2.000 m de distancia fueron significativamente menores, con registros de 321, 550, 87 teliosporas  $g^{-1}$  de suelo, para los tres sitios de estudio, respectivamente.

## Modelado de la dispersión de las teliosporas de carbón por las industrias

Los modelos aditivos generalizados (GAM) se ajustaron a los datos de dispersión de teliosporas donde el valor ajustado de  $R^2$  fue de 0,768, y los gráficos diagnósticos indicaron un buen ajuste de los residuos del modelo. Todos los factores predictivos incluidos en el modelo (tiempo, distancia, industria) fueron significativos ( $P < 0,05$ ). Un adecuado ajuste del modelo a los datos puede observarse en la **Figura 5.9**.



**Figura 5.9.** Modelo aditivo generalizado (GAM) del efecto parcial para los términos de temporalidad como fecha de colecta y espacialidad como distancia de cada trampa desde la industria (m) y los efectos aleatorios de cada sitio correspondiente a cada planta de procesamiento.

Un efecto temporal en la colecta de teliosporas fue observado, presentando un incremento durante los primeros 30 días (hasta el 21 de enero), disminuyendo su efecto a medida que transcurre el tiempo. Sumado a esto, se observa un mayor efecto del conteo de teliosporas en las estaciones de muestreo más cercana a las plantas de procesamiento, con una disminución del efecto a medida que las distancias van aumentando.

## DISCUSIÓN

Las plantas de procesamiento de maní son una fuente de dispersión de teliosporas de *T. frezii*, donde la propagación medida fue hasta al menos 2.000 m de distancia y modelada hasta 7.000 m, dependiendo de cada planta de procesamiento en particular y la época del año, según lo reportado en este trabajo. La cantidad de teliosporas colectadas en las trampas disminuye significativamente a distancias mayores a 500 m desde el centro de diseminación. Estos resultados permiten cuantificar el flujo de dispersión de teliosporas temporal y espacialmente, siendo este el primer reporte del rol que cumplen las industrias como fuente de diseminación de teliosporas de *T. frezii*.

Para el año 2015 el carbón se estableció en el centro de la provincia de Córdoba, donde se ubica la mayor cantidad de industrias procesadoras de maní (Paredes 2017). En el sistema de producción argentino, el maní es procesado bajo técnicas modernas en un número reducido de grandes empresas (Rago et al., 2017). Todos los lotes de producción de maní son procesados por las mismas compañías, donde ingresan a sus plantas de procesamiento vainas sanas y enfermas. En las mismas fábricas, las vainas carbonosas son abiertas liberando millones de teliosporas durante este proceso. En este sentido, las industrias actúan como una importante fuente de dispersión de teliosporas, que son liberadas al ambiente aumentando los niveles de inóculo en los suelos circundantes. Esta observación es corroborada según registros de altas incidencias de la enfermedad en lotes cercanos a las plantas, explicando la mayor presión de la enfermedad en estos lotes comerciales. La alta concentración de inóculo puede inhabilitar los lotes para producir maní debido a la estrecha relación entre la cantidad de inóculo en el suelo y la intensidad de la enfermedad (Oddino et al., 2010; Paredes 2017; Rago et al., 2017; Asinari et al., 2019).

Las teliosporas colectadas por las trampas en este trabajo indican que la acumulación de inóculo es constante. Según relevamientos locales (Paredes 2017), el lote con mayor incidencia de carbón (55%) se registró en el departamento Juárez Celman, a 2 km de una planta de procesamiento en General Cabrera, confirmando la alta presión de inóculo en el suelo, resultado del aporte de teliosporas de la industria procesadora, tal como fue reportado en este estudio. Del mismo modo, Peralta y Kearney (2018) observaron que la cantidad de inóculo de *T. frezii* presente en un lote cercano a una planta de procesamiento, era inversamente proporcional a la distancia a la fuente de dispersión. En este estudio, los menores niveles de

inóculo fueron registrados a los 2.000 m desde las plantas de procesamiento, sin embargo, aún en esos recuentos se incrementa constantemente el nivel de inóculo de los suelos.

Al ser las teliosporas de *T. frezii* estructuras de resistencia y acumularse en los suelos como enfermedad poliótica (Rago et al., 2017), el inóculo externo es de gran importancia epidemiológica. En este sentido, el procesamiento de vainas carbonosas en las industrias logra aumentar el inóculo de los lotes cercanos, siendo las áreas donde se procesa maní un centro de diseminación y acumulación constante de teliosporas. Esto genera en cierta medida focos de multiplicación y propagación de las teliosporas de carbón. Reportes de la situación fitosanitaria del carbón, inicialmente encontraban las mayores incidencias en regiones donde se procesaba maní (Paredes 2017; Rago et al., 2017), logrando una expansión a través de los años (Asinari et al., 2019; Paredes et al., 2021b).

Si bien la industria en Alejandro Roca no está localizada en el área de mayor incidencia de carbón en la provincia (Asinari et al., 2019), se observaron mayores conteos de teliosporas que en Hernando, que se localiza en una zona de alta carga de inóculo regional. Esto puede deberse a los volúmenes (toneladas diarias) y la calidad del maní procesado de cada planta en particular. Estrategias culturales como una prelimpieza de lotes con alto contenido de carbón, mediante algún mecanismo de separación previo al ingreso a planta, podrían ser una estrategia de disminución de la dispersión de esporas. Este tipo de estrategias está bien documentado en varios patosistemas, por ejemplo, en la podredumbre parda (*Monilinia fructicola*) en frutales de carozo, donde la limpieza de los frutos momificados en los huertos y frutales, reducen el inóculo inicial, la tasa epidémica, y por lo tanto la dispersión de la enfermedad (Martini y Mari 2014).

Durante el período de colecta de teliosporas en este estudio (dos meses y medio), el incremento estimado de teliosporas en suelo fue de 320, 500 y 90 a 2.000 m de distancia de las plantas procesadoras de General Deheza, Alejandro Roca y Hernando respectivamente. Las esporas pueden haber sido dispersadas por el viento, que cobra un rol importante en la diseminación en varios patógenos (Hau y de Vallavieille-Pope 2006; McCartney y West 2007; Rieux et al., 2014). Sin embargo, los cazaesporas fueron posicionados en una sola dirección. Si bien se sugiere evaluar mayores distancias, el modelo reporta que las teliosporas en General Deheza podrían dispersarse hasta 7.500 m desde la industria como centro de dispersión. En este sentido, numerosos reportes indican el transporte de esporas de patógenos a largas distancias (El Jarroudi et al., 2020; Van Der Heyden et al., 2021), donde por ejemplo, esporangios de

*Phytophthora infestans* son capaces de transportarse fácilmente a 10 - 20 km utilizando el viento como medio de dispersión (Aylor et al., 2001). Además, las condiciones ambientales durante el período de colecta como precipitaciones o ráfagas de viento no han sido medidas en este estudio. Las fluctuaciones en los vientos (dirección o velocidad), podrían estar influyendo o desviando la deposición de esporas (Van Der Heyden et al., 2021). Esto puede haber sucedido en las colectas de Hernando, donde para el 4 de marzo se observó un aumento en las teliosporas colectadas a 1.500 m con respecto a las colectadas a 1.000 m (97 y 63 teliosporas, respectivamente). Sin embargo, la dispersión de las esporas por el viento no siempre tiene una respuesta lineal, donde turbulencias pueden transportar las esporas y depositarlas en diferentes caminos pero bajo la misma dirección general (McCartney y West 2007; Van Der Heyden et al., 2021).

Las elevadas cantidades de inóculo observadas en lotes cercanos a las plantas de procesamiento indican que las teliosporas de *T. frezii* liberadas al ambiente continuamente incrementan las densidades de inóculo en los suelos aumentando el riesgo potencial de la enfermedad. Las teliosporas dispersadas por las industrias, potencian las infecciones de carbón y contribuyen a la multiplicación de inóculo, logrando una expansión en la intensidad de la enfermedad, teniendo como centro de diseminación a cada industria procesadora. La información generada en este estudio contribuye a comprender el rol de las industrias en la dispersión de las teliosporas de *T. frezii*, permitiendo generar estrategias, por ejemplo, de sanitización o eliminación de vainas carbonosas previa al procesamiento, que podrían contribuir a disminuir el aporte de las teliosporas al ambiente. Sin embargo, es necesario continuar con los estudios epidemiológicos y contrastarlos con los volúmenes de procesamiento y la calidad sanitaria de cada planta en particular.

## CONCLUSIONES

- Las plantas de procesamiento de maní son una fuente activa de dispersión de teliosporas de *T. frezii* al ambiente
- La cantidad de teliosporas dispersadas varía en las diferentes industrias evaluadas
- El número de teliosporas depositadas en los suelos circundantes a las plantas disminuye a mayor distancia desde el foco de diseminación

## BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO

- Agüero D. (2017). Mercado internacional y nacional del maní. En Fernandez E, Giayetto O (Eds.) *El cultivo de maní en Córdoba*, 2da edn. (411–433). Río Cuarto, Argentina: Editorial de la Universidad
- Akaike, H. (1974). A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*, 19(6), 716–723.
- Arias, S. L., Mary, V. S., Velez, P. A., Rodriguez, M. G., Otaiza-González, S. N., y Theumer, M. G. (2021). Where does the peanut smut pathogen, *Thecaphora frezii*, fit in the spectrum of smut diseases?. *Plant Disease*, 105(9), 2268-2280.
- Arneson, P. A. (2001). Plant disease epidemiology. En *The plant health instructor*. St. Paul, MN: The American Phytopathological Society.
- Asinari, F., Paredes, J.A., Monguillot, J.H., Rago, A.M. (2019). Últimos años de registros del carbón del maní, ¿hacia dónde vamos? En XXXIV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- Astiz Gasso, M., Leis, R., y Marinelli, A. (2008). Evaluación de incidencia y severidad del carbón de maní (*Thecaphora frezii*) en infecciones artificiales, sobre cultivares comerciales de maní. En 1 *Congreso Argentino de Fitopatología*. p (Vol. 161).
- Aylor D. (2017) CHAPTER 2: Patterns of Disease Spread. En *Aerial Dispersal of Pollen and Spores*. pp. 15–27
- Aylor, D. E. (1990). The role of intermittent wind in the dispersal of fungal pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 28(1), 73-9
- Aylor, D. E., Fry, W. E., Mayton, H., y Andrade-Piedra, J. L. (2001). Quantifying the rate of release and escape of *Phytophthora infestans* sporangia from a potato canopy. *Phytopathology*, 91(12), 1189-1196.
- Baker, K. F., y Smith, S. H. (1966). Dynamics of seed transmission of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 4(1), 311-332
- Bergamin Filho A (1996) Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico. Agronômica Ceres
- Calzada J. y Rozadilla, B. (2018) Argentina líder en exportaciones del complejo de Maní. Informativo semanal de la Bolsa de Comercio de Rosario
- Camiletti, B. X., Paredes, J. A., Monguillot, J. H., Grosso, N. R., & Rago, A. M. (2021). Fungicide efficacy of nanocrystal-based formulations against peanut smut. *Crop Protection*, 143, 105522.
- Carranza, J. M., y Lindquist, J. C. (1962). *Thecaphora frezii* sp., parásita de *Arachis* sp. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 10(1), 11-18.
- Cazón L.I., Paredes, J.A., Bisonard, M., Rago, A.M. (2016). Capacidad de infección de *Thecaphora frezii* en el tiempo. En XXXI Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. p. 52

- Cazón, L. I., Paredes, J. A., y Rago, A. M. (2018). The biology of *Thecaphora frezii* smut and its effects on argentine Peanut production. *Advances in Plant Pathology*. London: IntechOpen Ltd, 31-46.
- Cazón, L.I. (2015). *Detección molecular de Thecaphora frezii Carranza & Lindquist en semillas de maní (Arachis hypogaea L.)*. Tesis de maestría no publicada, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina
- Cazzola, N., Gateu, M., March, G., Marinelli, A., García, J., Rago, A.M., y Oddino, C. (2012) Intensidad y pérdidas ocasionadas por el carbón del maní según regiones de producción. XXVII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 34–35
- Dunn, P. K. (2004). Occurrence and quantity of precipitation can be modelled simultaneously. *International Journal of Climatology: A Journal of the Royal Meteorological Society*, 24(10), 1231-1239.
- El Jarroudi, M., Karjoun, H., Kouadio, L., y El Jarroudi, M. (2020). Mathematical modelling of non-local spore dispersion of wind-borne pathogens causing fungal diseases. *Applied Mathematics and Computation*, 376, 125107.
- Fiers, M., Edel-Hermann, V., Chatot, C., Le Hingrat, Y., Alabouvette, C., y Steinberg, C. (2012). Potato soil-borne diseases. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 93-132.
- Gelman, A., y Hill, J. (2006). *Data analysis using regression and multilevel/hierarchical models*. Cambridge university press, New York
- Gideon, S. (1978). Estimating the dimension of a model. *The Annals of Statistics*, 6(2), 461–464.
- Grewling, Ł., Bogawski, P., Szymańska, A., Nowak, M., Kostecki, Ł., y Smith, M. (2020). Particle size distribution of the major *Alternaria alternata* allergen, Alt a 1, derived from airborne spores and subspore fragments. *Fungal Biology*, 124(3-4), 219-227
- Gurka, M. J. (2006). Selecting the best linear mixed model under REML. *The American Statistician*, 60(1), 19-26.
- Hasan, M. M., y Dunn, P. K. (2010). A simple Poisson–gamma model for modelling rainfall occurrence and amount simultaneously. *Agricultural and Forest Meteorology*, 150(10), 1319–1330.
- Hau, B., de Vallavieille-Pope, C. (2006). Wind-dispersed diseases. En *The epidemiology of plant diseases*, pp. 387–416
- Ingold, C. T., y Hudson, H. J. (1993). Dispersal in fungi. En *The Biology of Fungi*, pp. 119-131
- Habel K., Grasman, R., Gramacy, R. B, Mozharovskiy, P., y Sterratt, D. C. (2019). geometry: Mesh Generation and Surface Tessellation. R package version 0.4.5. <https://CRAN.R-project.org/package=geometry>
- Kassambara, A. (2018). *Machine learning essentials: Practical guide in R*. CreateSpace Independent Publishing Platform.
- Katan, J. (2017). Diseases caused by soilborne pathogens: biology, management and challenges. *Journal of Plant Pathology*, 305-315.



- Khaliq, I., Fanning, J., Melloy, P., Galloway, J., Moore, K., Burrell, D., y Sparks, A. H. (2020). The role of conidia in the dispersal of *Ascochyta rabiei*. *European Journal of Plant Pathology*, 158(4), 911-924.
- Lichtemberg, P. S. F., Moreira, L. M., Zeviani, W. M., Amorim, L., y De Mio, L. L. (2022). Dispersal gradient of *M. fructicola* conidia from peach orchard to an open field. *European Journal of Plant Pathology*, 162(1), 231-236.
- Marinelli, A., March, G., Oddino, C., Garcia, J., Rago, A., y Zuza, M. (2010) El carbón del maní de 1995 a 2010 de enfermedad emergente a enfermedad endémica y epidémica. En XXV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 28–30
- Marinelli, A., March, G., Rago, A.M. (1995). El carbón del maní *Thecaphora frezii* sobre *Arachis hypogaea* L. En 7° Congreso de Micología y 17° Jornadas Argentinas de Micología. Rosario, Santa Fe, Argentina. p. 134
- Marinelli, A., March, G.J., Oddino, C. (2008). Aspectos biológicos y epidemiológicos del carbón del maní (*Arachis hypogaea* L.) causado por *Thecaphora frezii* Carranza & Lindquist. *Agriscientia*, 25(1), 1-6.
- Martini, C., & Mari, M. (2014). *Monilinia fructicola*, *Monilinia laxa* (Monilinia rot, brown rot). En *Postharvest decay* (pp. 233-265). Academic Press
- McCartney, A., y West, J. (2007). Dispersal of fungal spores through the air. *Mycology Series*, 25, 65.
- Meteoblue*. (s.f.). Archivo meteorológico. Recuperado de <https://www.meteoblue.com/es/tiempo/historyclimate/climatemodelled>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería (2021). *Cartas de Suelos de Córdoba*. Recuperado de <http://suelos.cba.gov.ar/>
- Munir, M., Wang, H., Dufault, N. S., y Anco, D. J. (2020). Early detection of airborne inoculum of *Nothopassalora personata* in spore trap samples from peanut fields using quantitative PCR. *Plants*, 9(10), 1327
- Norros, V., Rannik, Ü., Hussein, T., Petäjä, T., Vesala, T., y Ovaskainen, O. (2014). Do small spores disperse further than large spores?. *Ecology*, 95(6), 1612-1621.
- Oddino, C., Marinelli, A., March, G., García, J., Tarditi, L., D'Eramo, L.Y., y Ferrari, S. (2010). Relación entre el potencial inóculo de *Thecaphora frezii*, la intensidad de carbón del maní y el rendimiento del cultivo. En XXV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 24-26
- Paredes, J. A., Cazón, L. I., Bima, M., Kearney, M. I., Nicolino, J. M., y Rago, A. M. (2017). Protocolo de toma de muestras y evaluación para un correcto relevamiento del carbón del maní. En XXIII Jornada Nacional de Maní. General Cabrera, Argentina, pp 59–61
- Paredes, J. A., Cazon, L. I., Oddino, C., Monguillot, J. H., Rago, A. M., y Molina, J. E. (2021a). Efficacy of fungicides against peanut smut in Argentina. *Crop Protection*, 140, 105403.
- Paredes, J. A., Edwards Molina, J. P., Cazón, L. I., Asinari, F., Monguillot, J. H., Morichetti, S. A. et.al. (2021b). Relationship between incidence and severity of peanut smut and its regional distribution in the main growing region of Argentina. *Tropical Plant Pathology*, 1-12.

- Paredes, J.A. (2017). *Importancia regional del carbón del maní (Thecaphora frezii) y efecto de ingredientes activos de fungicidas sobre la intensidad de la enfermedad*. Tesis de maestría no publicada, Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Argentina
- Paredes, J.A., Asinari, F., Monguillot, J.H., Edwards, J.P., Oddino, C., y Rago, A.M. (2019). Incidencia del carbón del maní en función del inóculo de *Thecaphora frezii* en el suelo. En XXXIV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina
- Paredes, J.A., Cazón, L.I., y Rago, A.M. (2017b). Incremento de inóculo potencial según intensidad del carbón del maní. En XIX Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Chile. p. 143
- Peralta, V., y Kearney, M. I. (2018). Cuantificación de inóculo de *Thecaphora frezii* y análisis de su dispersión. *Ab Intus*, (1), 18-26.
- Piepenbring, M., Hagedorn, G., y Oberwinkler, F. (1998). Spore liberation and dispersal in smut fungi. *Botanica Acta*, 111(6), 444-460.
- Rago, A. M., Cazón, L. I., Paredes, J. A., Molina, J. P. E., Conforto, E. C., Bisonard, E. M., y Oddino, C. (2017). Peanut smut: from an emerging disease to an actual threat to Argentine peanut production. *Plant Disease*, 101(3), 400-408.
- Rago, A.M. (2015). El carbón del maní, situación y perspectivas de la enfermedad. En XXX Jornada Nacional de Maní. General Cabrera, Argentina
- Rekah, Y., Shtienberg, D., y Katan, J. (1999). Spatial distribution and temporal development of *Fusarium crown and root rot of tomato and pathogen dissemination in field soil*. *Phytopathology*, 89(9), 831-839.
- Rieux, A., Soubeyrand, S., Bonnot, F., Klein, E. K., Ngando, J. E., Mehl, A. et al., (2014). Long-distance wind-dispersal of spores in a fungal plant pathogen estimation of anisotropic dispersal kernels from an extensive field experiment. *PLoS One*, 9(8), e103225.
- Rogers, S. L., Atkins, S. D., y West, J. S. (2009). Detection and quantification of airborne inoculum of *Sclerotinia sclerotiorum* using quantitative PCR. *Plant Pathology*, 58(2), 324-331.
- Rowe, R.C., Farley, J.D., Coplin, D.L. (1977). Airborne Spore Dispersal and Recolonization of Steamed Soil by *Fusarium oxysporum* in Tomato Greenhouses. *Phytopathology* 77:1513
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., y Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods*, 9(7), 671-675.
- Seers, B. M., y Shears, N. T. (2015). New Zealand's climate data in R - An introduction to clifro. The University of Auckland, New Zealand. URL: <http://stattech.wordpress.fos.auckland.ac.nz/2015-02-new-zealands-climate-data-in-r-an-introduction-to-clifro>.
- Shukla, A., Panchal, H., Mishra, M., Patel, P. R., Srivastava, H. S., Patel, P., y Shukla, A. K. (2014). Soil moisture estimation using gravimetric technique and FDR probe technique: a comparative analysis. *Am. Int. J. Res. Form. Appl. Nat. Sci*, 8, 89-92.
- Sistema Suelo (s.f.). *Textura y parámetros hídricos*. Recuperado de <https://sites.google.com/ayv.unrc.edu.ar/sistema-suelo-banco-de-pruebas/textura-y-parámetros-hídricos>.

- Sparks, A. H., Forbes, G. A., Hijmans, R., y Garrett, K. A. (2011). A metamodeling framework for extending the application domain of process-based ecological models. *Ecosphere*, 2(8), 1–14.
- Team R Development Core (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- VanDerWal, J., Falconi, L., Januchowski, S., Shoo, L., y Storlie, C. (2014). Species Distribution Modelling Tools, Tools for processing data associated with species distribution modelling exercises. CRAN. *R-project.org/package=SDMTools*.
- Villari, C., Mahaffee, W. F., Mitchell, T. K., Pedley, K. F., Pieck, M. L., y Hand, F. P. (2017). Early detection of airborne inoculum of *Magnaporthe oryzae* in turfgrass fields using a quantitative LAMP assay. *Plant Disease*, 101(1), 170-177.
- West, J.S. (2014). Plant Pathogen Dispersal. En eLS. Chichester, UK. doi:10.1002/9780470015902.a0021272
- Wickham, H., Averick, M., Bryan, J., Chang, W., McGowan, L. D. A., François, R. et al., (2019). Welcome to the Tidyverse. *Journal of Open Source software*, 4(43), 1686.
- Wilocquet, L., Berud, F., Raoux, L., y Clerjeau, M. (1998). Effects of wind, relative humidity, leaf movement and colony age on dispersal of conidia of *Uncinula necator*, causal agent of grape powdery mildew. *Plant Pathology*, 47(3), 234-242.
- Wood, S. N. (2011). Fast stable restricted maximum likelihood and marginal likelihood estimation of semiparametric generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)*, 73(1), 3-36.
- Yee, T. W., y Mitchell, N. D. (1991). Generalized additive models in plant ecology. *Journal of vegetation science*, 2(5), 587-602.

### CONSIDERACIONES GENERALES

La enfermedad del carbón del maní (*Thecaphora frezii*) tuvo sus inicios en Argentina, donde en el año 1995 se reportaba por primera vez en lotes comerciales (Marinelli et al., 1995). El hecho de no haber sido reportada anteriormente en ningún otro país del mundo fue trascendental en la historia de esta enfermedad en la producción manisera nacional. En diversos patosistemas, múltiples enfoques de control o modelos epidemiológicos ya han sido estudiados, encontrando respuestas a los problemas fitopatológicos con cierta facilidad. Para el carbón del maní, la ausencia de investigación a nivel mundial posicionaba a los fitopatólogos argentinos frente al desafío de generar el conocimiento de manera local.

Desde que se inician las investigaciones en el carbón, se buscó comprender el avance y la permanencia de esta enfermedad en el sistema productivo. Durante el desarrollo de esta tesis, diferentes aspectos han sido abordados para describir aspectos de los componentes del ciclo de patogénesis del carbón del maní, y de esta manera sentar las bases para comprender el comportamiento de la enfermedad.

En los inicios del año 2000, la enfermedad se reportaba de manera esporádica en algunos lotes productivos de maní. Vainas carbonosas aisladas comenzaron a focalizar la atención de especialistas. Sin embargo, al no expresar síntomas en la parte aérea de la planta durante su ciclo, la enfermedad permaneció oculta, sin asumir la importancia que merecía. En este sentido, no se tomaron las medidas necesarias para evitar la dispersión del patógeno que fue incrementando su intensidad con el transcurso de los años, comenzando a percibirse como una verdadera amenaza para el año 2014.

Inicialmente, las investigaciones se enfocaron en comprender los procesos infectivos, determinando que el órgano susceptible es el ginóforo al momento que está ingresando al suelo, produciendo una infección y colonización local (Marinelli et al., 2008). Sumado a eso, estudios de distribución del patógeno buscaron comprender algunos aspectos epidemiológicos, donde parámetros de incidencia y prevalencia iban denotando un aumento de la enfermedad a través de los años (Oddino et al., 2007; Marinelli et al., 2010; Cazzola et al., 2012). En el año 2010, ya no se consideraba al carbón como una enfermedad emergente, sino que ya era endémica del

área manisera y epidémica en ciertos años (Marinelli et al., 2010). Para ese entonces, se comenzaban las investigaciones tendientes a la búsqueda de herramientas para reducir las infecciones, donde múltiples esfuerzos de varios grupos de trabajo estuvieron focalizados en determinar las mejores estrategias de manejo. En ese momento, se entendió que el carbón del maní era una enfermedad de difícil control.

Algunas características explican por qué la enfermedad logró alcanzar los niveles que se reportan en la actualidad. El cultivar Granoleico, de excelente comportamiento productivo, pero con alta susceptibilidad al carbón, fue el que ocupó la mayor área sembrada en los últimos años, donde para en el año 2017 ya se sembraba en más del 70 % del área manisera. Los altos rendimientos, incluso con registros de carbón, favorecieron el continuo uso de este cultivar, potenciando el aumento de las teliosporas de *T. frezii* en los suelos constantemente. Hasta el día de hoy, continúa bien posicionado en el sistema productivo con más de un 50 % de la superficie sembrada (SISA 2021). Sumado a eso, la gran mayoría de los cultivares de maní son susceptibles a la enfermedad. Si bien, diferentes programas de mejoramiento apuntan a generar cultivares resistentes, no es un proceso fácil. La búsqueda de nuevos cultivares resistentes a carbón, tiene como objetivo lograr bajas o nulas infecciones, de esta manera evitar la multiplicación y propagación de las teliosporas, además de contar con buenas características agronómicas, de altos rendimientos y de calidad (Bressano et al., 2019; Wann et al., 2020; Bennett et al., 2021; Kearney et al., 2021). Hoy en día, solo un cultivar ha sido registrado como resistente a carbón en el año 2019 ('EC-191 RC (AO)'). Sin embargo, su adopción es muy baja (< 1% de la superficie sembrada), dado principalmente por las características agronómicas y de rendimiento, los cuales no logran satisfacer a la mayoría de los productores, relegando su siembra a lotes donde la cantidad de inóculo de *T. frezii* es tan elevada, que significaría altos niveles de incidencia para otro cultivar.

Estrategias de control de otras enfermedades fueron implementadas en el carbón, como rotaciones, productos químicos y biológicos, utilización de enmiendas, labranzas, etc. Sin embargo, ninguna demostró eficiencias aceptables en el control de la enfermedad. La baja adopción de estrategias de manejo, y la poca efectividad de prácticas contundentes de control, contribuyó a la expansión del carbón en el área manisera. Basados en este escenario, fue necesario profundizar los estudios para comprender la situación sanitaria en la que nos encontrábamos. En este sentido, los resultados de los estudios abordados en esta tesis responden al comportamiento epidemiológico y fitopatológico de la enfermedad.

Las estructuras de resistencia permiten a los patógenos permanecer viables por largos períodos de tiempo hasta encontrar las condiciones propicias para lograr la infección. Sin dudas, esta es una de las características que permitió a *T. frezii* encontrar la eficiencia suficiente para lograr su permanencia en los lotes productivos maniseros, perdurar y lograr altos niveles de infección. Los múltiples años de sobrevivencia de las teliosporas de *T. frezii* hicieron que se acumulen constantemente en los suelos, confirmando su característica poliética.

A su vez, su capacidad de propagación hace que la enfermedad se disemine rápidamente en distintos lotes productivos. En un principio, el transporte de las teliosporas fue contaminando las semillas, método de propagación que logró iniciar con pequeñas cantidades de inóculo lotes donde aún no se detectaban teliosporas de *T. frezii* en los suelos. La semilla contaminada y la maquinaria fueron un método eficiente para la propagación de la enfermedad.

Las vainas carbonosas producto de las infecciones de carbón, además de reducir el rendimiento, generan grandes cantidades de teliosporas. El tamaño de las teliosporas es lo suficientemente pequeño para lograr dispersarse por el viento. Ciertamente, el rompimiento de las vainas carbonosas durante el proceso de cosecha, permitieron no solo incrementar el inóculo en el lote, sino que además favorecieron al transporte de las teliosporas propagadas por el viento, incrementando el inóculo de los campos próximos, logrando la diseminación de la enfermedad.

En la particularidad de la interacción planta patógeno, *T. frezii* no afecta a otro cultivo que no sea del género *Arachis*. Al no tener otro hospedante alternativo representa una ventaja desde el punto de vista productivo, al evitar propagaciones o continuidades del ciclo del patógeno. Esto cobra sentido en el esquema de rotaciones, donde para el cultivo de maní se recomienda una rotación cada cuatro años (Bongiovanni et al., 2017).

Los patógenos de suelo, suelen convertirse en enfermedades limitantes. Es decir, los niveles de inóculo son tan elevados, que los daños son considerablemente altos para lograr una producción estable. Focalizar estrategias de manejo, por ejemplo, en áreas específicas con mayor o menor densidad de inóculo en los suelos, donde diferentes herramientas económica y ambientalmente viables, pueden resultar en un control aceptable de la enfermedad, disminuyendo la intensidad, la multiplicación y la propagación de esporas.

La enfermedad es el resultado de interacciones entre el hospedante, el patógeno y cada uno de los componentes bióticos y abióticos del suelo y del medio ambiente (Agrios, 2005).

Múltiples interacciones ocurren en el suelo que pueden tener influencia en los procesos infectivos. Chellemi et al., (2016) sugirieron cuatro pilares para el enfoque del manejo de patógenos habitantes de suelo: prevenir la introducción y propagación de patógenos en el sistema de cultivo, reducir la población de patógenos a niveles que puedan ser manejados a través de la retroalimentación biológica natural, mejorar la capacidad de supresión del suelo y minimizar el impacto de las acciones destructivas, a través de un enfoque integrado de manejo. El carbón del maní es un patosistema complejo, donde todas sus interacciones y características hacen que el manejo de la enfermedad sea difícil. Sin embargo, la integración del conocimiento generado, sumado a una combinación en estrategias de control, basadas en estudios epidemiológicos, permitirían definir esquemas de manejo integrado y regional. Recientemente, otros patosistemas abordan un control regional como es el caso de *Huanglongbing* (HLB) en cítricos (García Figuera et al., 2022). En este sentido, se dejan de lado los límites de propiedad, para abordar de manera conjunta un problema fitopatológico en toda un área. Este tipo de estrategia requiere del compromiso colectivo, donde para el caso del HLB están focalizadas principalmente en el momento de aplicación de insecticidas para el control del insecto vector. Si bien se observan buenos resultados, la falta de participación de los actores es identificada como el principal problema. Para el carbón del maní, las estrategias deberían ser abordadas de manera similar, con participación institucional, individual y colectiva, promoviendo una reducción racional y sostenible de la enfermedad con mínimos efectos negativos sobre el medio ambiente.

La propagación de la enfermedad está altamente influenciada por las teliosporas producidas por las vainas carbonosas en los lotes. Es necesario comprender que a mayor inóculo en los suelos habrá más enfermedad y mayor producción de esporas. Además, la dispersión de las esporas genera una expansión de la enfermedad a gran escala. De esta manera, las estrategias regionales cobran relevancia apuntando a un enfoque holístico. Para ello, una herramienta concreta es el monitoreo y cuantificación de teliosporas de *T. frezii* en el suelo, de esta manera es posible predecir la incidencia esperada y se podrían implementar estrategias para mitigar las infecciones, como el uso de fungicidas, o utilización de variedades con un buen comportamiento. Además, entendiendo la dispersión de las teliosporas vehiculizadas por el viento, la cosecha de maní podría ser realizada en días poco ventosos, cobrando más importancia si se tiene referencia de ser un lote con alto carbón.

La expansión del área manisera a nuevas regiones, explora suelos con bajo contenido de teliosporas de *T. frezii*. Para evitar la propagación de la enfermedad, es necesario evitar el transporte de las teliosporas contaminando las semillas de maní. En este sentido, su selección debería ser de calidad sanitaria controlada, producida en lotes con bajo potencial inóculo, de baja rotación con cultivos de maní, y seleccionada especialmente para este fin.

Demostrar avances científicos focalizados en el carbón del maní es fundamental, entendiendo que Argentina es el único país donde la enfermedad está reportada en lotes comerciales. Las investigaciones en profundidad resultan esenciales como base para el desarrollo de diferentes estrategias de manejo de la enfermedad. El maní cumple un papel fundamental en el sistema productivo argentino, siendo una economía regional con un significativo aporte económico, agropecuario e industrial. La calidad del maní argentino es reconocida a nivel mundial, por lo que es necesario priorizar la sostenibilidad de la producción de maní y continuar generando un producto con las características que se merece. Los resultados obtenidos en esta tesis doctoral contribuyen al conocimiento y a la comprensión de diferentes aspectos del carbón del maní, describiendo las etapas del ciclo de patogénesis, caracterizando componentes de la epidemiología de la enfermedad, con el fin de lograr direccionar estrategias de manejo eficientes que puedan ser implementadas por el sector productivo, asegurando resultados económicos y ambientalmente viables.



## CONCLUSIONES GENERALES

- Las teliosporas de *T. frezii* no disminuyen su capacidad de infección hasta al menos seis años de longevidad en el suelo.
- Las vainas severamente afectadas (SDP) constituyen aproximadamente el 80 % de las vainas infectadas por *T. frezii*, siendo la mejor representación del índice de severidad de la enfermedad.
- El inóculo de *T. frezii* en suelo se ve incrementado posterior a un ciclo de cultivo debido a las infecciones de carbón, donde el número de teliosporas en el suelo se triplica cuando la enfermedad en el lote es mayor a 3 % de SDP.
- No se observaron diferencias en la intensidad de la enfermedad cuando se sometieron a los clavos al contacto con el inóculo, durante los primeros 15 días en el que el clavo ingresa al suelo.
- El menor contenido hídrico de suelo (dado por situaciones experimentales o por menores precipitaciones) predisponen a mayores infecciones de carbón. Lo mismo fue observado para las variables de temperaturas extremas mínimas y máximas durante el período de clavado.
- Hay interacción entre los rastrojos y la expresión de la enfermedad, donde se observa menor infección cuando el cultivo antecesor es maíz comparado con el cultivo antecesor soja.
- Las teliosporas de *T. frezii* son vehiculizadas por el viento, donde la dirección y velocidad del viento influyen en su dispersión. La cosecha del maní es el momento donde las vainas carbonosas logran liberar las teliosporas contenidas en su interior, logrando su propagación (vehiculizadas por el viento) en el mismo lote o lotes vecinos hasta al menos 400 m desde el área de cosecha.
- Las industrias maniseras son una fuente activa de dispersión de teliosporas de *T. frezii* al ambiente, donde vainas carbonosas procesadas liberan teliosporas al ambiente que incrementan las teliosporas en los suelos circundantes a las industrias. El número de teliosporas depositadas en los suelos disminuye a mayor distancia desde el foco de diseminación.

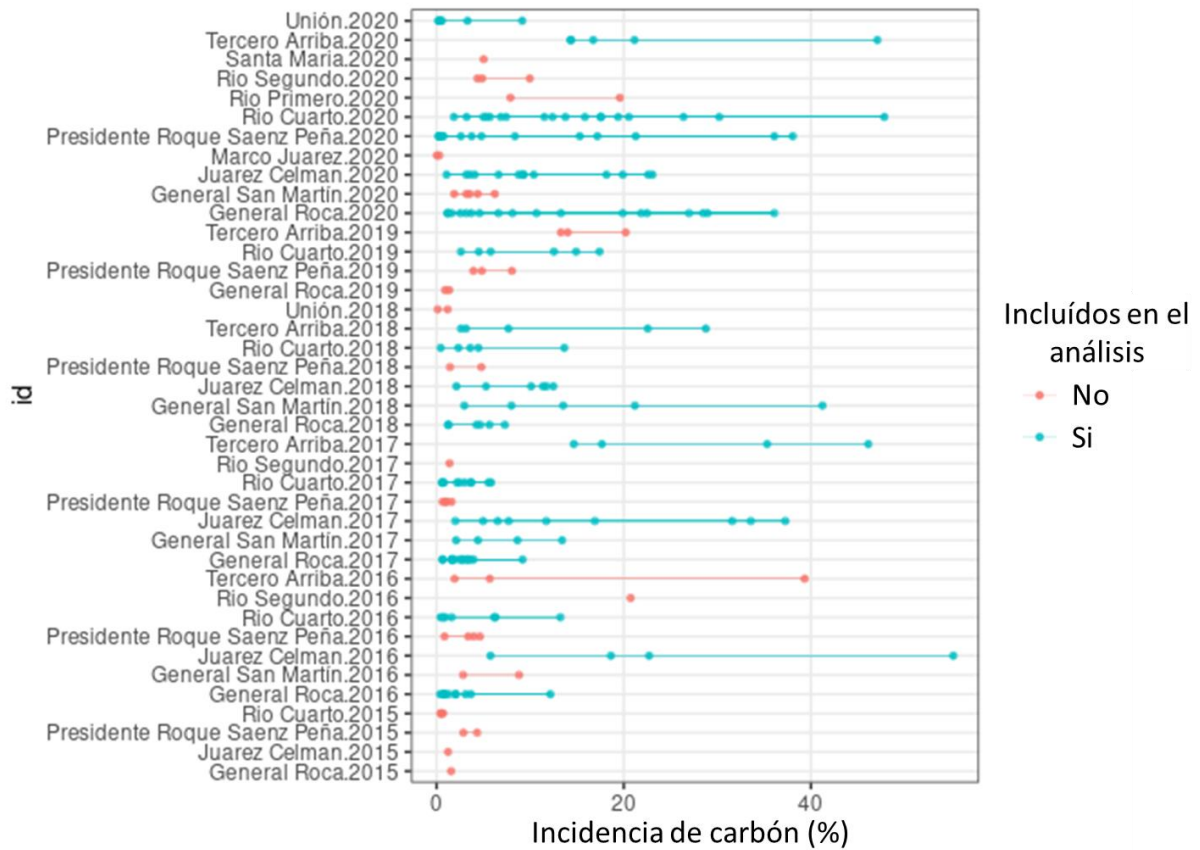
## BIBLIOGRAFÍA DEL CAPÍTULO

- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition. Elsevier Academic Press, London, UK. 922 p.
- Bennett, R. S., Rodriguez, A. V., Baldessari, J. J., Chamberlin, K. D., Payton, M. E., y Wang, N. (2021). A Note on the Association Between *Thecaphora frezzii* Infection and Peanut Pod Density. *Peanut Science*, 48(1), 54-60.
- Bongiovanni, R., Troilo, L.G., Fiant, S., Cuggino, S. (2017). Avances y estado de situación en Buenas Prácticas Agrícolas de maní. *Ciencia y Tecnología de los Cultivos Industriales: Maní*. (7-14). Córdoba, Argentina: INTA Ediciones
- Bressano, M., Massa, A. N., Arias, R. S., de Blas, F., Oddino, C., Faustinelli, P. C., Soave, S., Soave, J.H., Pérez, M.A., Sobolev, V.S., Lamb, M.C., Balzarini, M., Buteler, M.I., & Seijo, J. G. (2019). Introgression of peanut smut resistance from landraces to elite peanut cultivars (*Arachis hypogaea* L.). *Plos one*, 14(2), e0211920
- Cazzola, N., Gateu, M., March, G., Marinelli, A., García, J., Rago, A.M., y Oddino, C. (2012) Intensidad y pérdidas ocasionadas por el carbón del maní según regiones de producción. En: XXVII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 34–35
- Chellemi, D. O., Gamliel, A., Katan, J., & Subbarao, K. V. (2016). Development and deployment of systems-based approaches for the management of soilborne plant pathogens. *Phytopathology*, 106(3), 216-225.
- Garcia Figuera, S., Babcock, B., Lubell, M., & McRoberts, N. (2022). Collective action in the area-wide management of an invasive plant disease. *Ecology and Society*, 27(2).
- Kearney, M., Zusa, M., Ibañez, M., Peralta, V., Peiretti, G., Alcalde, M., Mojica, C., & Rago, A. (2021). Response of peanut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes to smut (*Thecaphora frezzii*) in the peanut growing region of Argentina. *Peanut Science*, 48(1), 61-67.
- Marinelli, A., March, G., Oddino, C., Garcia, J., Rago, A., y Zusa, M. (2010) El carbón del maní de 1995 a 2010 de enfermedad emergente a enfermedad endémica y epidémica. En XXV Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina. pp. 28–30
- Marinelli, A., March, G., Rago, A.M. (1995). El carbón del maní *Thecaphora frezzii* sobre *Arachis hypogaea* L. En 7° Congreso de Micología y 17° Jornadas Argentinas de Micología. Rosario, Santa Fe, Argentina. p. 134
- Marinelli, A., March, G.J., Oddino, C. (2008). Aspectos biológicos y epidemiológicos del carbón del maní (*Arachis hypogaea* L.) causado por *Thecaphora frezzii* Carranza & Lindquist. *Agriscientia*, 25(1), 1-6.
- Oddino, C., Marinelli, A., March, G., Zusa, M., & García, J. (2007). Evaluación regional de enfermedades de maní. Campaña 2006/07. En: XXII Jornada Nacional del Maní. General Cabrera, Córdoba, Argentina.
- SISA (2021) *Maní. 2020.2021*. Recuperado de:  
[https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sisa\\_if\\_maní\\_20\\_21.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sisa_if_maní_20_21.pdf)
- Wann, D. Q., Falco, A., Cavigliasso, M., & Cassano, C. (2020). Phenotypic variation of peanut smut (*Thecaphora frezzii*) incidence and severity in the US peanut mini-core collection. *Peanut Science*, 47(2), 46-53.

## **ANEXOS**

## **ANEXO 1**

### **MATERIAL SUPLEMENTARIO – CAPÍTULO 3**



**Figura S 3.1.** Criterio de filtrado de datos para el análisis de regresión de coeficientes aleatorios: los ambientes compuestos por la interacción de la ubicación del campo y el año de muestreo con al menos 4 campos y un rango de incidencia de carbón del 5% se mantuvieron para fines de modelado

**Tabla S 3.1.** Precipitaciones acumuladas (mm) registradas durante la estación de crecimiento del maní (noviembre a abril) para las campañas relevadas (2014-15 a 2019-20)

Departamento	2014-15							2015-16							2016-17						
	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abril	Acumulado	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abril	Acumulado	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abril	Acumulado
General Roca	61	102	124	139	56	80	<b>561</b>	179	89	259	97	32	113	<b>769</b>	44	106	98	76	194	120	<b>638</b>
Gral. San Martín	80	94	148	275	191	48	<b>836</b>	172	112	132	264	51	134	<b>865</b>	22	114	103	125	81	79	<b>523</b>
Juárez Celman	93	100	76	243	119	90	<b>720</b>	158	98	155	198	67	101	<b>777</b>	20	64	114	116	73	86	<b>473</b>
Marcos Juárez	112	132	116	145	169	101	<b>775</b>	175	105	152	187	67	111	<b>797</b>	36	94	128	81	111	131	<b>580</b>
Pte. Roq. Sáenz Peña	79	132	144	147	127	98	<b>726</b>	115	137	279	115	68	74	<b>787</b>	49	146	153	102	152	136	<b>738</b>
Río Cuarto	110	98	82	251	127	52	<b>719</b>	180	112	168	143	91	96	<b>790</b>	31	75	118	79	101	85	<b>489</b>
Río Primero	79	98	139	333	125	46	<b>819</b>	78	75	66	177	84	123	<b>603</b>	74	88	111	163	51	41	<b>527</b>
Río Segundo	101	97	160	278	134	37	<b>807</b>	121	85	99	239	79	174	<b>797</b>	50	133	119	136	63	80	<b>582</b>
Tercero Arriba	75	101	155	185	163	47	<b>726</b>	123	82	125	275	65	138	<b>808</b>	37	91	89	133	81	50	<b>481</b>
Unión	99	99	146	246	185	64	<b>839</b>	138	111	138	201	63	113	<b>764</b>	22	111	105	125	82	102	<b>547</b>
<b>Total</b>							<b>753</b>							<b>776</b>							<b>558</b>

Departamento	2017-18							2018-19							2019-20						
	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abril	Acumulado	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abril	Acumulado	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abril	Acumulado
General Roca	70	75	60	9	10	44	<b>268</b>	128	58	128	48	53	53	<b>469</b>	86	92	130	38	156	45	<b>547</b>
Gral. San Martín	43	152	36	6	18	118	<b>373</b>	249	148	119	23	160	93	<b>791</b>	54	111	125	120	98	18	<b>526</b>
Juárez Celman	73	141	51	9	16	114	<b>404</b>	185	112	169	29	137	77	<b>709</b>	75	138	107	149	135	15	<b>618</b>
Marcos Juárez	14	160	64	7	14	159	<b>418</b>	177	142	201	31	116	116	<b>783</b>	76	160	124	168	129	53	<b>711</b>
Pte. Roq. Sáenz Peña	93	90	104	11	38	72	<b>408</b>	62	94	159	24	78	50	<b>467</b>	63	149	154	121	205	48	<b>739</b>
Río Cuarto	27	109	95	32	15	61	<b>339</b>	153	72	163	30	173	55	<b>646</b>	99	79	95	125	142	35	<b>574</b>
Río Primero	66	101	80	30	5	36	<b>318</b>	95	66	230	50	128	145	<b>714</b>	130	111	63	172	69	28	<b>573</b>
Río Segundo	22	123	91	43	6	57	<b>342</b>	144	76	199	65	126	126	<b>736</b>	87	149	37	150	97	21	<b>540</b>
Tercero Arriba	63	137	91	44	15	82	<b>432</b>	205	78	212	50	245	130	<b>920</b>	43	93	62	125	115	29	<b>467</b>
Unión	65	166	60	5	11	135	<b>442</b>	216	138	183	45	125	83	<b>790</b>	68	136	120	148	120	32	<b>625</b>
<b>Total</b>							<b>375</b>							<b>703</b>							<b>592</b>

**Tabla S 3.2.** Dinámica de los conteos de teliosporas de *Thecaphora frezii* en inóculo inicial y final (teliosporas g<sup>-1</sup> de suelo), y evaluaciones del carbón del maní como incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad (DSI), para cada lote evaluado.

N° lote	Campaña agrícola	Departamento	Inóculo inicial	Incidencia (%)	SDP (%)	DSI (%)	Nivel de enfermedad (SDP %)	Inóculo final	Aumento de teliosporas	Proporción de incremento
1	2016-17	Juárez Celman	1890	33.6	31.2	28.3	alto	5000	3110	1.6
2	2016-17	Juárez Celman	2112	31.6	26.1	25.4	alto	6670	4558	2.2
3	2016-17	Juárez Celman	580	11.7	8.5	8.5	medio	1660	1080	1.9
4	2016-17	Juárez Celman	757	16.9	13.0	12.7	alto	2333	1576	2.1
5	2016-17	Juárez Celman	1990	37.3	32.5	31.1	alto	5333	3343	1.7
6	2017-18	Tercero Arriba	631	22.6	20.2	18.3	alto	2800	2169	3.4
7	2017-18	Tercero Arriba	252	2.6	2.4	2.0	bajo	833	581	2.3
8	2017-18	General San Martín	387	13.5	11.8	10.8	alto	1167	780	2.0
9	2017-18	General San Martín	253	3.0	2.3	2.2	bajo	111	-142	-0.6
10	2017-18	Juárez Celman	126	11.8	11.5	10.3	alto	444	318	2.5
11	2017-18	Pte. Roque Sáenz Peña	379	1.4	1.1	1.0	bajo	333	-46	-0.1
12	2017-18	Juárez Celman	253	12.5	10.6	9.7	alto	1667	1414	5.6
13	2017-18	Juárez Celman	379	11.4	10.8	9.7	alto	1500	1121	3.0
14	2017-18	Juárez Celman	505	5.3	3.3	3.7	medio	333	-172	-0.3
15	2017-18	Unión	379	1.2	0.5	0.6	bajo	222	-157	-0.4
16	2017-18	Juárez Celman	126	2.1	2.0	1.7	bajo	111	-15	-0.1
17	2018-19	Tercero Arriba	1389	14.0	11.7	10.9	alto	1330	-59	0.0
18	2018-19	Pte. Roque Sáenz Peña	253	3.9	1.4	1.9	bajo	667	414	1.6
19	2018-19	Pte. Roque Sáenz Peña	758	8.1	6.6	6.0	medio	3667	2909	3.8
20	2018-19	Pte. Roque Sáenz Peña	250	4.8	2.5	2.8	bajo	1444	1194	4.8
21	2018-19	General Roca	505	0.9	0.5	0.6	bajo	667	162	0.3
22	2018-19	General Roca	126	1.4	1.0	0.9	bajo	166	40	0.3
23	2018-19	Río Cuarto	1010	17.4	14.7	13.1	alto	6000	4990	4.9
24	2018-19	Río Cuarto	505	4.5	3.3	3.2	medio	1000	495	1.0
25	2018-19	Río Cuarto	1136	14.9	11.5	10.9	alto	1111	-25	0.0
26	2018-19	Río Cuarto	758	2.6	1.9	1.7	bajo	1000	242	0.3
27	2018-19	Tercero Arriba	1010	20.2	16.4	15.4	alto	1889	879	0.9
28	2018-19	Tercero Arriba	1010	13.3	10.9	10.4	alto	2667	1657	1.6
29	2018-19	Río Cuarto	631	12.5	9.0	9.0	medio	2333	1702	2.7
30	2019-20	General San Martín	445	2.3	0.8	1.2	bajo	335	-110	-0.2
31	2019-20	General San Martín	335	4.6	1.9	2.3	bajo	335	0	0.0
32	2019-20	Río Primero	500	7.3	5.7	4.9	medio	1330	830	1.7
33	2019-20	Río Segundo	335	9.6	7.1	6.8	medio	335	0	0.0
34	2019-20	Río Primero	335	12.5	9.0	8.8	medio	1333	998	3.0
35	2019-20	Santa María	225	7.6	5.1	5.3	medio	1300	1075	4.8

## **ANEXO 2**

### **MATERIAL SUPLEMENTARIO – CAPÍTULO 4**



**Tabla S 4.1.** Coeficientes de correlación de Pearson entre el período de exposición del clavo al inóculo (días) y los diferentes grados de severidad (expresados en incidencia) para los dos experimentos EXP1 y EXP2.

<b>Ensayo EXP1</b>									
Momento de exposición a inóculo (días)	<b>Incidencia grado 1</b>		<b>Incidencia grado 2</b>		<b>Incidencia grado 3</b>		<b>Incidencia grado 4</b>		
	Pearson	p-valor	Pearson	p-valor	Pearson	p-valor	Pearson	p-valor	
Total (0-10)	-	-	-	-	0,02	0,963	0,59	0,054	
Temprano (0-5)	-	-	-	-	0,17	0,743	0,79	0,061	
Tardío (6-10)	-	-	-	-	-0,59	0,293	0,19	0,758	

<b>Ensayo EXP2</b>									
Momento de exposición a inóculo (días)	<b>Incidencia grado 1</b>		<b>Incidencia grado 2</b>		<b>Incidencia grado 3</b>		<b>Incidencia grado 4</b>		
	Pearson	p-valor	Pearson	p-valor	Pearson	p-valor	Pearson	p-valor	
Total (0-15)	-0,39	0,2368	-0,39	0,2385	-0,15	0,665	0,6	0,052	
Temprano (0-5)	0,470	0,346	-0,040	0,934	-0,47	0,342	0,36	0,490	
Tardío (7-15)	-	-	-	-	-0,82	0,093	0,86	0,062	

**Tabla S 4.2.** Rendimiento promedio de maní (grano y caja) y precipitaciones desde octubre a marzo y los promedios históricos, para el departamento Juárez Celman durante los años 2015 a 2020.

		<b>Departamento Juárez Celman</b>					
<b>Cosecha</b>		<b>2015</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>	<b>2019</b>	<b>2020</b>
Rendimiento (t/ha)	Caja	3,28	3,97	4,02	2,28	4,6	4.3
	Grano	2,32	2,87	2,81	1,41	3,22	3.01
Precipitaciones octubre a marzo (mm)		737	730	650	350	700	650
Precipitaciones históricas 2007-2020 (mm)		650	650	650	650	650	650

Fuente: MAGyP. Estimaciones agrícolas

**Tabla S 4.3.** Análisis de correlación de Pearson para los parámetros de enfermedad de porcentaje de vainas de severidad grado 3, porcentaje de vainas severidad grado 4, incidencia, vainas severamente afectadas (SDP), índice de severidad (DSI), y vainas ligeramente afectadas (LDP), y los períodos de acumulación de lluvias (mm) bisemanales, mensuales, o totales, desde diciembre a marzo. Datos colectados en dos sitios de experimentación entre los años 2016 a 2020 (General Cabrera) y 2015 a 2019 (General Deheza).

Período de lluvia	Grado 3 (%)		Grado 4 (%)		SDP (%)		Incidencia (%)		DSI (%)		LDP (%)	
	Pearson	p-valor	Pearson	p-valor	Pearson	p-valor	Pearson	p-valor	Pearson	p-valor	Pearson	p-valor
<b>Bisemanal</b>												
1-ene al 15-ene	0,23	0,0026	-0,36	<0,0001	-0,2	0,0063	-0,2	0,0067	-0,26	0,0005	0,03	0,6683
16-ene to 31-ene	0,03	0,6663	-0,22	0,0034	-0,18	0,0185	-0,15	0,0419	-0,18	0,0176	0,08	0,3018
01-Feb to 15-Feb	-0,04	0,5945	-0,46	<0,0001	-0,42	<0,0001	-0,35	<0,0001	-0,42	<0,0001	0,21	0,0054
16-Feb to 28-Feb	-0,15	0,0441	-0,38	<0,0001	-0,41	<0,0001	-0,28	0,0002	-0,36	<0,0001	0,35	<0,0001
1-Mar to 15-Mar	-0,01	0,8809	-0,43	<0,0001	-0,38	<0,0001	-0,39	<0,0001	-0,43	<0,0001	0,05	0,5307
<b>Mensual</b>												
Enero	0,21	0,0041	-0,45	<0,0001	-0,29	0,0001	-0,28	0,0002	-0,34	<0,0001	0,08	0,2943
15-ene to 15-Feb	-0,02	0,7987	-0,54	<0,0001	-0,49	<0,0001	-0,41	<0,0001	-0,48	<0,0001	0,24	0,0016
Febrero	-0,11	0,1421	-0,45	<0,0001	-0,45	<0,0001	-0,34	<0,0001	-0,42	<0,0001	0,31	<0,0001
15-Feb to 15-Mar	-0,14	0,0687	-0,57	<0,0001	-0,57	<0,0001	-0,45	<0,0001	-0,55	<0,0001	0,33	<0,0001
<b>Total del período de cultivo</b>												
*Total del período de cultivo	0,09	0,2378	-0,54	<0,0001	-0,43	<0,0001	-0,34	<0,0001	-0,44	<0,0001	0,25	0,0007
<b>Total del período de susceptibilidad</b>												
**Total del período de susceptibilidad	-0,02	0,8355	-0,57	<0,0001	-0,51	<0,0001	-0,43	<0,0001	-0,51	<0,0001	0,26	0,0005

\* Lluvias acumuladas desde diciembre a abril, como período normal de crecimiento del cultivo

\*\*Lluvias acumuladas desde enero al 15 de marzo, como período normal de clavado (clavos que darán vainas a cosechar para rendimiento y clavos susceptibles a carbón)

**Tabla S 4.4.** Incidencia, vainas severamente afectadas (SDP) e índice de severidad del carbón del maní (DSI) en lotes relevados en la provincia de Córdoba, clasificados como de potencial inóculo “bajo” o “alto” cuando la cantidad de teliosporas de *T. frezii* estimadas era menor a 750 o mayor a 750 teliosporas g<sup>-1</sup> de suelo, respectivamente.

Año	n	Lote	Inóculo (teliosporas g <sup>-1</sup> suelo)	Clasificación potencial inóculo	Incidencia (%)	DSI (%)	SDP (%)
2017	5	1	580	baio	11,7	8,5	8,5
		2	757	alto	16,9	12,7	13,0
		3	1890	alto	33,6	28,3	31,2
		4	1990	alto	37,3	31,1	32,5
		5	2112	alto	31,6	25,4	26,1
2018	13	6	379	baio	1,2	0,6	0,5
		7	126	baio	2,1	1,7	2,0
		8	126	baio	11,8	10,3	11,5
		9	253	baio	3,0	2,2	2,3
		10	253	baio	12,5	9,7	10,6
		11	253	baio	13,5	10,8	11,8
		12	379	baio	1,4	1,0	1,1
		13	379	baio	2,6	2,0	2,4
		14	379	baio	11,4	9,7	10,8
		15	505	baio	5,3	3,7	3,3
		16	631	baio	22,6	18,3	20,2
		17	1010	alto	17,4	13,1	14,7
		18	1136	alto	21,2	16,5	17,0
2019	12	19	505	baio	0,9	0,6	0,5
		20	126	baio	1,4	0,9	1,0
		21	250	baio	4,8	2,8	2,5
		22	253	baio	3,9	1,9	1,4
		23	505	baio	4,5	3,2	3,3
		24	631	baio	12,5	9,0	9,0
		25	758	alto	2,6	1,7	1,9
		26	758	alto	8,1	6,0	6,6
		27	1010	alto	13,3	10,4	10,9
		28	1010	alto	20,2	15,4	16,4
		29	1136	alto	14,9	10,9	11,5
		30	1389	alto	14,0	10,9	11,7

**Tabla S 4.5.** Medidas resúmenes de las temperaturas medias, mínimas y máximas registradas en los lotes para los meses de enero, febrero y enero-febrero. Medias, desvío estándar (D.E.) y valores mínimos y máximos.

Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
<b>Media Ene-Feb</b>	30	23,88	0,18	23,62	24,09
<b>Min Ene-Feb</b>	30	16,88	0,76	16,02	18,15
<b>Max Ene-Feb</b>	30	31,07	0,36	30,37	31,44
<b>Media Ene</b>	30	24,25	0,39	23,83	24,8
<b>Min Ene</b>	30	17,07	0,53	16,44	18,02
<b>Max Ene</b>	30	31,5	0,5	30,51	32,05
<b>Media Feb</b>	30	23,51	0,23	23,35	24,01
<b>Min Feb</b>	30	16,69	0,99	15,59	18,27
<b>Max Feb</b>	30	30,63	0,59	30	31,36

**Tabla S 4.6.** Temperaturas mínimas, medias y máximas, registradas en cada uno de los cubículos del invernadero y cámara de crecimiento de cultivo, durante 21 días para evaluar el efecto en la infección del carbón del maní.

Sitio de temperatura controlada	Temperatura (°C)		
	Min <sup>a</sup>	Media <sup>a</sup>	Max <sup>a</sup>
Cámara de crecimiento	21,84 ± 0,47	22 ± 0,25	22,17 ± 0,15
Box invernadero A	22,71 ± 1,83	24,58 ± 1,69	26,45 ± 2,36
Box invernadero B	23,66 ± 1,63	26,54 ± 1,18	29,11 ± 1,74
Box invernadero C	24,76 ± 2,27	27,19 ± 1,49	29,62 ± 1,83
Box invernadero D	25,41 ± 4,08	28,99 ± 2,44	32,89 ± 1,21
Box invernadero E	26,63 ± 3,05	29,78 ± 2,97	32,93 ± 3,08

<sup>a</sup> Medias obtenidas de todos los registros ± el desvío estándar, para cada variable según sitio de temperatura controlada del experimento.

## **ANEXO 3**

### **MATERIAL SUPLEMENTARIO – CAPÍTULO 5**

**Tabla S 5.1.** Descripción de las características agronómicas y ubicación de los lotes, y las fechas de cultivo, pasos de cosecha y las muestras recolectadas para cada lote experimental

Lote	Sitio <sup>a</sup>	Cultivo antecesor	Tipo de suelo	Cultivar	Fecha de siembra	Fecha de inversión <sup>b</sup>	Fecha de cosecha <sup>c</sup>	Cosechadora <sup>d</sup>	Capacidad operativa <sup>e</sup>	Rto <sup>f</sup>	Fecha de toma de muestras
1	Villa María	Maíz	Haplustol údico	Granoleico	25/11/19	20/04/20	27/05/20	COBRA (1)	20-25	5,45	6/01/20
2	Ballesteros	Soja	Haplustol údico	Granoleico	29/11/19	17/05/20	14/06/20	COBRA (1)	20-25	3,3	6/12/20
3	Río Primero	Soja	Argiustol típico	Granoleico	15/11/19	25/05/20	14/06/20	LEONHARTT (3)	30-45	4,09	25/06/20
4	Capilla de los remedios	Maíz	Haplustol éntico	Granoleico	11/11/19	5/10/20	7/07/20	AMADAS (2)	30	5,2	7/08/20
5	Comechingones	Maíz	Haplustol típico	Granoleico	29/10/19	18/05/20	6/05/20	LEONHARTT (1)	10-15	6,5	7/02/20
6	Laguna Larga	Maíz	Haplustol éntico	Granoleico	15/11/19	5/10/20	19/06/20	AMADAS (3)	45	5,5	26/06/20

<sup>a</sup> Ubicación en Córdoba donde se realizó el estudio observacional de lote

<sup>b</sup> Primera etapa de cosecha – inversión de la planta de maní

<sup>c</sup> Cosecha y trilla propiamente dicha

<sup>d</sup> Marca de la máquina cosechadora y cantidad ( )

<sup>e</sup> Número de hectáreas cosechadas por día

<sup>f</sup> Rendimiento en toneladas por hectárea

**Tabla S 5.2.** Descripción de los datos analíticos de suelo del perfil típico de la serie correspondiente a cada sitio de localización de las industrias en estudio en Hernando, General Deheza y Alejandro Roca.

<b>Localización</b>	<b>Carta de suelo</b>	<b>Serie</b>	<b>Descripción</b>	
		<b>Monte Alto</b>	Horizonte	Ap
Hernando	Hoja 3363-8 "Hernando"	3.3.20 - <i>Consociación</i> <b>MONTE ALTO</b>	Prof.de la muestra (cm)	0 - 22
			Arcilla < (2p) %	18,0
			Limo (2 - 50p) %	55,2
			Are.m.fina (50 - 100p) %	24,1
			Are.fina (100 - 250p) %	0,4
			Are.media (250 ~ 500p) %	-
			<b>DAP</b>	<b>1,4</b>
		<b>General Cabrera</b>	Horizonte	Al
General Deheza	Hoja 3363-14 "General Cabrera"	3.3.9. - <i>Consociación</i> <b>GENERAL</b> <b>CABRERA</b>	Prof.de la muestra (cm)	0 - 21
			Arcilla < (2p) %	10,6
			Limo (2 - 50p) %	39,2
			Are.m.fina (50 - 100p) %	46,0
			Are.fina (100 - 250p) %	3,1
			Are.media (250 ~ 500p) %	0,4
			<b>DAP</b>	<b>1,52</b>
		<b>Olaeta</b>	Horizonte	Al
Alejandro Roca	Hoja 3363-26 "Alejandro"	3.3.28. - <i>Asociación de</i> <i>series</i> <b>OLAETA 50 % y</b> <b>OLAETA</b> <i>ligeramente</i> <i>erosionada por</i> <i>viento 50 %.</i>	Prof.de la muestra (cm)	0 - 26
			Arcilla < (2p) %	9,4
			Limo (2 - 50p) %	22,2
			Are.m.fina (50 - 100p) %	65,0
			Are.fina (100 - 250p) %	3,0
			Are.media (250 ~ 500p) %	0,5
			<b>DAP</b>	<b>1,57</b>