

TAMAÑO ÓPTIMO DE MUESTRA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE INÓCULO DE *THECAPHORA FREZII*, Y ANÁLISIS DE SU DISPERSIÓN

Peralta, V.¹; Kearney, M. I. T.¹; Zuza, M. S.¹; Rago, A.^{1,2}; Cerioni, G.³; Morla, F.³.

¹ Dpto. Biología Agrícola, FAV-UNRC ² IPAVE-INTA ³ Dpto. Producción Vegetal FAV-UNRC
mkearney@ayv.unrc.edu.ar

Introducción

El carbón del maní se detectó por primera vez en Argentina, en la provincia de Córdoba, específicamente en la zona norte de la principal región manisera (Pampayasta, Villa Ascasubi, Ticino) en frutos de maní cultivado (*Arachis hypogaea*), de los cultivares Florunner y Colorado Irradiado INTA, en la campaña agrícola 1994/95. Paulatinamente, pasó de ser una enfermedad emergente a endémica en la región antes citada, e incluso epidémica en algunos lotes de producción. Para la campaña agrícola 2012/13, se cuantificó para la región centro-norte una prevalencia del 37% y una incidencia del 0,5 al 55% y para la región sur una prevalencia del 22%, con valores de incidencia que oscilaron entre el 0,05-0,6%. Los síntomas que la enfermedad produce en el hospedante son frutos de mayor tamaño y de consistencia esponjosa (hipertrofia), y al abrirlos una o varias semillas están carbonosas. Las semillas que se encuentran afectadas pueden tener pequeñas áreas hipertrofiadas y con decoloración del tegumento o presentar los síntomas en la totalidad de la semilla. Debajo del tegumento se encuentra una masa carbonosa compuesta por las teliosporas del patógeno, las cuales se presentan solitarias o en glomérulos. *Thecaphora frezii* es un organismo biotrófico que produce infección y colonización "localizada", por lo que cada soro (sector de fruto afectado) que se observa corresponde a una infección originada por la germinación de una teliospora presente en el suelo. Experimentalmente se ha comprobado que la intensidad de la enfermedad está relacionada con la cantidad de teliosporas presentes en el suelo al momento de la siembra. Sin embargo, no se ha desarrollado aún una metodología que permita conocer el número de muestras a tomar en un lote para diagnosticar la presencia o no del patógeno. Considerando lo expresado anteriormente, en este trabajo se plantearon como objetivos determinar el número de muestras más adecuado para la cuantificación de la densidad de inóculo de *Thecaphora frezii* en suelo y evaluar la dispersión del patógeno según la distancia a la fuente de inóculo.

Materiales y Métodos

El ensayo se efectuó en un lote de producción de 80 has ubicado en la proximidad de una planta procesadora de maní en la zona rural de Charras, con un historial productivo que incluyó al maní en los últimos diez años. En el lote bajo estudio se establecieron cinco sitios de muestreos que fueron ubicados de acuerdo a la figura 1. En cada sitio se determinó un diseño en W, y sobre cada brazo de la misma se obtuvieron 10 muestras conformadas cada una por 10 submuestras (sobre 1m de surco), obtenidas con un sacabocado de 5 cm de diámetro y 10 cm de profundidad. El volumen aproximado de cada submuestra de suelo fue de 62,5 cm³. La determinación del tamaño óptimo de muestra (TOM) se realizó por dos métodos diferentes (analítico y gráfico). El método analítico se realizó de acuerdo a la fórmula $n = S^2 / (x^2 \cdot CV_x^2)$, en la cual n es el número óptimo de muestras, x la media de la densidad de inóculo considerando 40, 20, y 12 muestras (10, 5 y 3 muestras por cada brazo de la W) en cada sitio de muestreo. Para cada número de muestras total por sitio (40, 20, 12) se pre-establecieron errores aceptables de 5, 10 y 20% ($CV_x = 0,05, 0,1$ y $0,2$). Luego se compararon por LSD Fisher los diferentes tratamientos (40, 20 y 12 muestras) utilizando un mismo CV y considerando los cinco sitios de muestreo. El método gráfico que se utilizó para determinar el TOM, fue el propuesto por Kranz (1988) considerando diferentes números de muestras (12, 20 y 40) en los diferentes sitios de muestreo. Para realizar esta metodología se estimó la media y la desviación estándar de la cantidad de inóculo obtenido. Los datos se graficaron en un gráfico de doble eje "y" en el cual constan los desvíos y las medias en las ordenadas (ejes y) mientras que el tamaño de muestra figura en la abscisa (eje x). De acuerdo a este método, cuando ambas curvas se estabilizan (curva de desvío y curva de media) se toma como tamaño óptimo de la muestra el número correspondiente en la abscisa. Por su parte, la cantidad de inóculo por gramo de suelo se estimó por conteo directo de teliosporas observadas en microscopio en 40x, contenidas en microgotas de 2.5µl, obtenidas de una suspensión de 2g de suelo en 50ml de agua. Por otro lado, se determinó también el TOM por método gráfico para el lote completo con diferentes diseños (W, X y V) haciendo uso para ello de los datos obtenidos preliminarmente de los brazos de las W de cada sitio de muestreo. Por último, para el estudio de dispersión de inóculo se dividió el lote en tres sectores con una línea imaginaria; llamando "tratamiento a" al sector más cercano a la planta procesadora de maní, "tratamiento b" al sector intermedio y "tratamiento c" al sector más alejado de la misma (Figura 1). Cada tratamiento estuvo formado por el promedio del n° de teliosporas/ gr de suelo de cada uno de los brazos de las "W" muestreadas anteriormente y se compararon luego mediante test LSD Fisher (5%).

Resultados y discusión

De acuerdo al método analítico, considerando todos los sitios y un CV: 0,2, el valor máximo fue de 49 muestras sin cambios significativos entre los diferentes tratamientos (40, 20 y 12 muestras) pero si entre los diferentes CV utilizados, generando TOM menores a mayores CV (Tabla 1 y Figura 2). Para el método gráfico, el valor

máximo de TOM considerando todos los sitios, fue menor al obtenido mediante el método analítico siendo para esta experiencia de 31 muestras. Utilizando diferentes diseños de muestreo que abarcaron a todo el lote mediante el método gráfico, los TOM obtenidos fueron 25, 35 y 31 para los diseños en W, X y V respectivamente. Se pudo comprobar que entre los valores promedios de teliosporas por gramo de suelo ubicados más alejados (tratamiento c) y más cercanos a la fuente potencial de inóculo (tratamiento a), existieron diferencias significativas. Por su parte, el tratamiento b, ubicado en el centro del lote (sitio 3), mostró diferencias significativas con respecto al tratamiento c, y no lo hizo con el tratamiento a (Figura 3). Con éstos resultados podemos inferir que el nivel de inóculo de *Thecaphora frezii* disminuye progresivamente a medida que nos alejamos de la planta procesadora de maní (fuente de inóculo de teliosporas).

Tabla 1. Tamaños óptimos de muestra (TOM) según método analítico, sitios de muestreo, coeficientes de variación (CV_x) y número de muestras por brazo.

N°Muestras	CVx	"W"sitio1	"W"sitio2	"W"sitio3	"W"sitio 4	"W"sitio5
		n				
40 (10 por brazo)	0,05	160	406	198	684	527
	0,1	40	102	50	171	132
	0,2	10	25	12	43	33
20 (5 por brazo)	0,05	139	319	162	782	775
	0,1	35	80	41	195	194
	0,2	9	20	10	49	48
12 (3 por brazo)	0,05	125	269	173	436	258
	0,1	31	67	43	109	65
	0,2	8	17	11	27	16

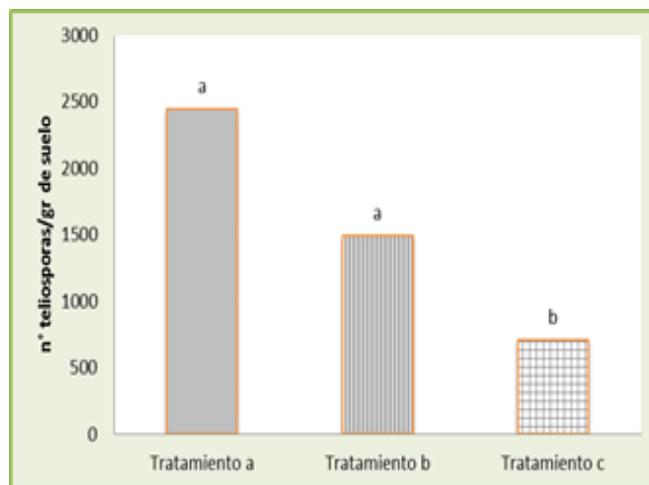
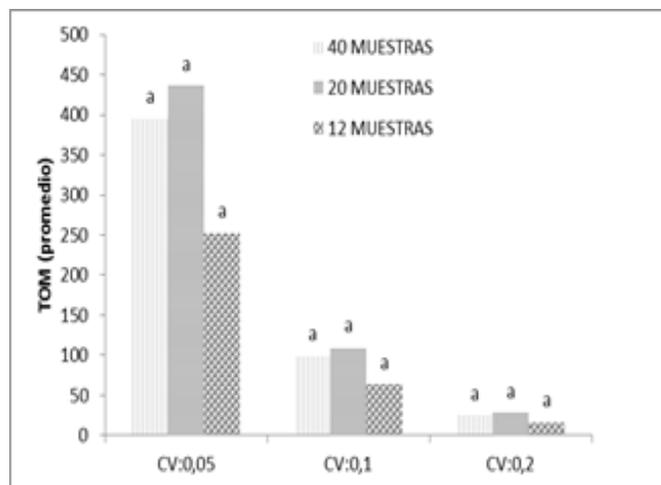
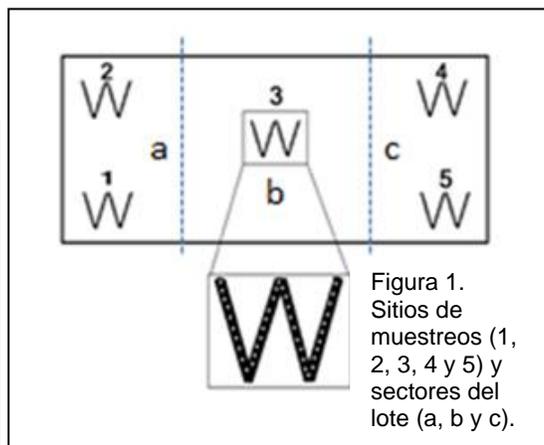


Figura 2. Número promedio de TOM de los cinco sitios de muestreo según tratamiento y CV (0,05; 0,1; 02).

Conclusiones

- Utilizando el método analítico para determinar el TOM, el número de muestras resultantes dependen en mayor medida del coeficiente de variación utilizado y no del número de muestras utilizado para el cálculo.
 - La utilización de los valores más bajos de CV en el método analítico incrementa significativamente el número de muestras.
 - Empleando el método gráfico propuesto por Kranz, el TOM es menor al obtenido mediante el método analítico siendo como máximo de 31 muestras para la mayoría de los sitios evaluados.
 - Considerando un solo diseño en la totalidad del lote, tomando 35 muestras de suelo es posible determinar de manera confiable la densidad de inóculo de *Thecaphora frezii* utilizando cualquiera de los tres diseños planteados en esta experiencia.
 - La cantidad de inóculo de carbón del maní presente en un lote cercano a una planta de proceso, es inversamente proporcional a la distancia del mismo a esa fuente.
- Se concluye que para lotes con alta infestación de teliosporas de carbón de maní, tomando entre 30 y 50 muestras de suelo (método gráfico o analítico), se garantiza la obtención de un valor confiable del potencial inóculo presente en el mismo.