



## INFORME FINAL

### Identificación del factor causal de la aparición de manchas blancas en granos de maní

#### Responsables del trabajo:

Dra. María Alejandra Pérez Agostini

Lic. Sofía Cuggino

Ing. Agr. Camila Illa

#### Objetivo general

Identificar el factor causal de la aparición de manchas blancas en granos de maní.

#### Ejes del proyecto desarrollado

Se evaluaron variables **morfológicas**, **bioquímicas** y **sanitarias** desde el arrancado y de manera secuencial, para poder establecer el factor causal de la aparición de manchas blancas en granos de maní.

#### Material biológico

Los granos de maní fueron remitidos por cuatro empresas identificadas como A, B, C y D. Se solicitó el material de acuerdo al instructivo enviado oportunamente, sin embargo las muestras presentaron la siguiente secuencia en cada empresa:

#### EMPRESA A

Muestra 1 Campo

Muestra 2 Antes secado

Muestra 3 Después secado

Muestra 4 Antes pelar

Muestra 5 Después pelar

Muestra 6 En el depósito

Muestra 7 Antes blanchado

Muestra 8 Después blanchado

#### EMPRESA B

Muestra 1 Campo Alto y bajo

Muestra 2 Granel

Muestra 3 Después limpieza

Muestra 4 Antes secado

Muestra 5 Después secado

Muestra 6 Después descascarado  
Muestra 7 Antes ingreso al horno  
Muestra 8 Embolse

**EMPRESA C**

Muestra 1 Campo- ingreso a planta  
Muestra 2 Celda  
Muestra 3 Antes secado  
Muestra 4 Después secado  
Muestra 5 Antes descascarado  
Muestra 6 Después descascarado  
Muestra 7 Después limpieza  
Muestra 8 Almacenamiento  
Muestra 9 Ingreso Blanqueado  
Muestra 10 Después Blanqueado  
Muestra 11 Antes horno  
Muestra 12 Después horno

**EMPRESA D**

Muestra 1 Campo  
Muestra 2 Ingreso a industria  
Muestra 3 Celda almacenamiento  
Muestra 4 Después secado  
Muestra 5 Antes descascarado  
Muestra 6 Después descascarado  
Muestra 7 Antes blanqueado  
Muestra 8 Después blanqueado

Debe destacarse que el número de repeticiones en cada etapa no fue el mismo en todas las empresas y en cada etapa muestreada. En la siguiente tabla se presentan de manera comparativa las secuencias enviadas por la cuatro empresas participantes:

| ETAPA                | Empresa A | Empresa B | Empresa C | Empresa D |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Campo                | x         | x         | x         | x         |
| Celda                |           | x         | x         | x         |
| Después limpieza     |           | x         |           |           |
| Antes secado         | x         | x         | x         |           |
| Después secado       | x         | x         | x         | x         |
| Antes descascarado   | x         |           | x         | x         |
| Después descascarado | x         | x         | x         | x         |
| Después limpieza     |           |           | x         |           |
| Depósito             | x         |           | x         | x         |
| Ingreso blanchado    | x         |           | x         |           |
| Después blanchado    | x         |           | x         | x         |
| Antes de horno       |           |           | x         |           |
| Después de horno     |           |           | x         |           |
| Embolse              |           | x         |           |           |

Las empresas que suministraron los datos correspondientes a las etapas muestreadas fueron la A y la D, de acuerdo al siguiente detalle:

#### EMPRESA A

| Etapa                           |                         |
|---------------------------------|-------------------------|
| Siembra                         | Variedades Alto Oleicos |
| Arrancado                       | a los 217 DDS           |
| Permanencia en andana           | 50 a 60 días            |
| Secado                          | Tº ambiente + 8 ºC      |
| Almacenamiento en celdas        |                         |
| Descascarado                    |                         |
| Almacenamiento maní sin cáscara |                         |
| Blanchado                       |                         |
| Almacenamiento maní blanchado   |                         |
| Horneado                        | 90 ºC                   |

## EMPRESA D

| Etapa                           |  |               |
|---------------------------------|--|---------------|
| Siembra                         | Granoleico 1ºM   |               |
| Arrancado                       |  | a los 181 DDS |
| Permanencia en andana           |  | 30 a 45 días  |
| Secado estático                 | 30-35 °C   |               |
| Almacenamiento en celdas        | Hº y Tº ambiente   | 42 a 45 días  |
| Descascarado                    |  |               |
| Almacenamiento maní sin cáscara | Hº y Tº ambiente   | 22 a 28 días  |
| Blancheado                      |  |               |
| Almacenamiento maní blandeado   | Hº y Tº ambiente   | 19 días       |
| Horneado                        | Módulo calor 70°C-84°C<br>Módulo frío Tº ambiente +20°C<br>Tº ambiente -10°C | 21 min.       |




Una vez ingresadas las muestras al laboratorio, inmediatamente fueron procesadas. Las determinaciones llevadas a cabo fueron:

### Caracterización bioquímica por tetrazolio

Se llevaron a cabo tres repeticiones de 50 granos de cada muestra remitida correspondiente a la etapa muestreada en cada empresa. Los granos fueron colocados a embeber entre papel con agua destilada deionizada durante 18 horas. Posteriormente se retiró el tegumento y se sumergieron en solución de cloruro de 2,3,5 trifenil tetrazolio al 0,5% durante 2 horas en oscuridad a 25°C. Luego se lavaron en agua corriente y se evaluaron de acuerdo al patrón propuesto por Pérez y Argüello (1997).

La observación del grado de tinción, su profundidad y el estado del tejido, permitió establecer categorías de daño de acuerdo a cada etapa del procesamiento evaluada.

En la siguiente figura se presentan la tinción característica en granos normales, granos con pequeñas áreas afectadas y severamente afectadas.

| Granos normales   | Pequeñas áreas con defectos   | Áreas afectadas severamente  |
|---|---|--|
|  |  |  |

De acuerdo al tipo de tinción se puede caracterizar el daño según su origen, según se representa en la siguiente imagen:

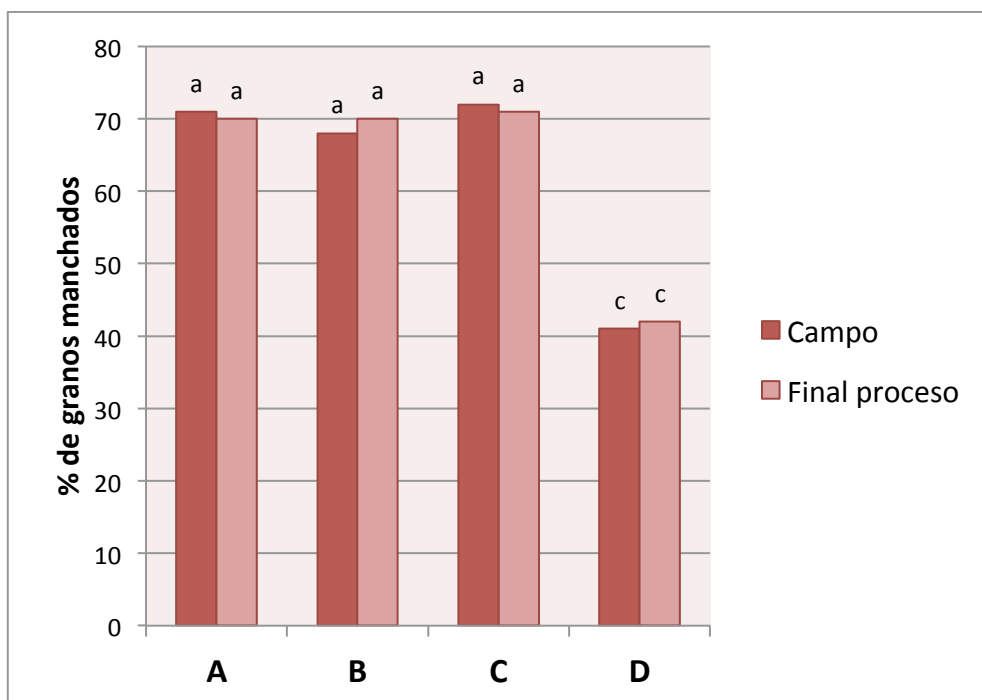


En la siguiente imagen se observan las diferentes categorías en respuesta a la tinción, de granos de maní provenientes del campo de la empresa B.



**Evaluación de tinción con tetrazolio en muestras de campo provenientes de la Empresa B**

En la siguiente figura se presentan los porcentajes de granos de maní manchados, identificados con la tinción por tetrazolio al inicio y al final del procesamiento, en las diferentes empresas evaluadas.



**Porcentaje de granos de maní manchados identificados por tetrazolio, al inicio y final de proceso en diferentes empresas**

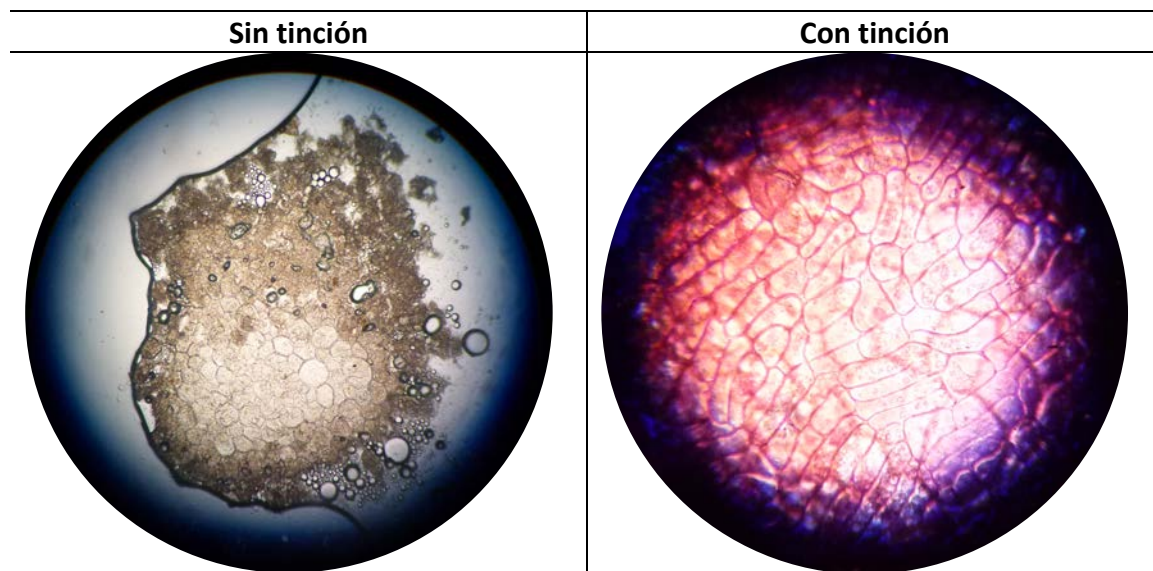
De acuerdo a los resultados se concluye que:

- la técnica de tinción con tetrazolio permitió la caracterización de los granos según los diferentes niveles y tipos de daño.
- las determinaciones con tetrazolio pueden ser aplicadas en todas las etapas de producción a fin de verificar los efectos ocasionados por las condiciones en el tratamiento de los granos en plantas de procesamiento.
- las evaluaciones colorimétricas con tetrazolio son ensayos rápidos y repetibles, sin embargo requiere entrenamiento del evaluador para su correcta interpretación.

### **Análisis histológico**

A partir de los granos afectados se realizaron cortes histológicos, los cuales fueron observados bajo microscopio (con y sin tinción) a fin de establecer cambios estructurales a nivel celular.

La siguiente figura muestra la disposición celular en el área correspondiente a la mancha, no evidenciándose alteración celular en cuanto a su estructura


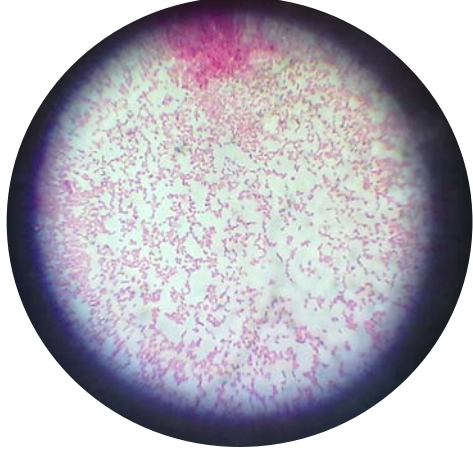


**Observación microscópica de la estructura celular en áreas manchadas de grano de maní**

### **Evaluación de sanidad: Análisis bacteriológico**

A fin de evaluar la posible contaminación con bacterias se llevó a cabo la extracción del material cotiledonal afectado por mancha blanca y se sembró en agar papa glucosado en cámara de cultivo a 27°C durante cinco días. En la siguiente figura se presentan las colonias bacterianas observadas y la respuesta de los microorganismos a la tinción de Gram.



| Colonias bacterianas  | Caracterización de bacterias (Tinción Gram)  |
|---|--|
|  |  |

**Colonias bacterianas observadas en áreas con manchas blancas en granos de maní y su respuesta a la tinción Gram.**

A partir de secciones de tejido cotiledonal con áreas blancas en granos de maní sin tostar, se observó el desarrollo de colonias bacterianas irregulares, blancas y húmedas, más secas hacia la periferia. Se mostraron como Gram negativas, lo que demostró que su origen era edáfico; esto permitió deducir que la contaminación bacteriana no era la causa de la aparición de manchas blancas en granos de maní.

Sólo se observó una única colonia distinta de color amarillo con bacterias muy pequeñas, Gram negativas. No se evidenció diferencias entre las colonias observadas provenientes de tejidos con mancha blanca y sin mancha, colocados en medio de cultivo en cámara de crecimiento.

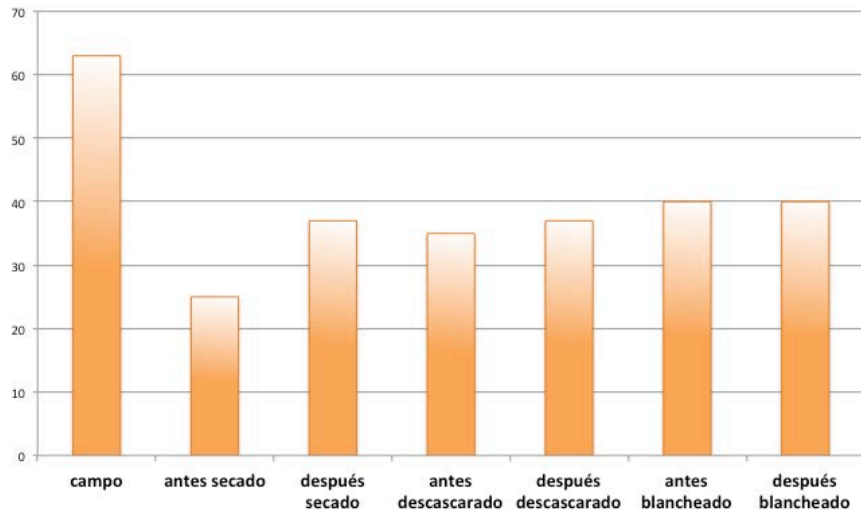
Sin embargo, en granos de maní tostado las bacterias observadas fueron muy pequeñas Gram negativas, con contaminantes en forma de bastones largos, muy grandes y Gram positivos. Esto puso en evidencia un incremento en el nivel de contaminación bacteriana en esta etapa del procesamiento con organismos que no provienen del suelo.

### **Evaluación de sanidad: Análisis fúngico**

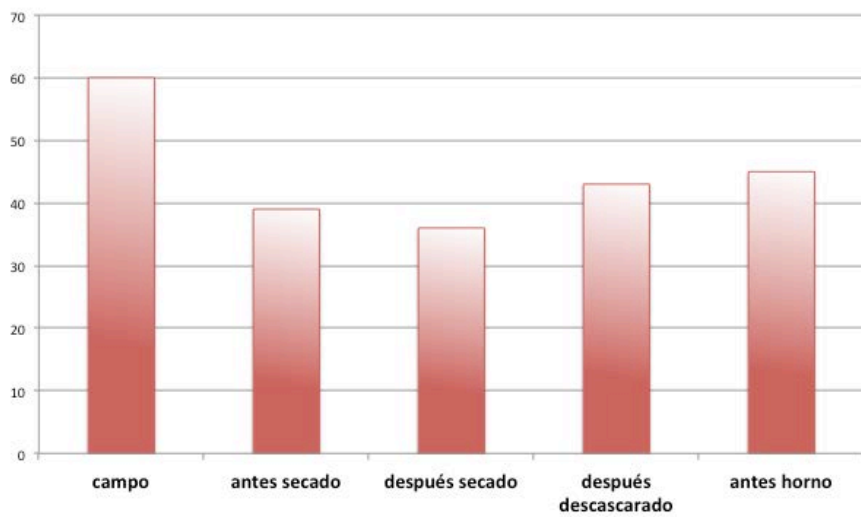
Se llevó a cabo el método de "Blotter test modificado", para lo cual cada muestra recibida proveniente de cada etapa en el procesamiento, fue evaluada en cuatro repeticiones de 50 semillas, que se colocaron en bandejas sobre papel de filtro humedecido con agua destilada. Se incubaron en cámara de cultivo a  $21 \pm 2^\circ \text{C}$ , con luz NUV en ciclos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Las evaluaciones se realizaron a los 7 días desde la siembra. Los hongos presentes se clasificaron a través de las técnicas comúnmente usadas en micología y con la ayuda de claves. La variable registrada fue el porcentaje de granos infectados por hongos.

A continuación se presentan los porcentajes de granos infectados por hongos en cada empresa para cada etapa del procesamiento muestreado.

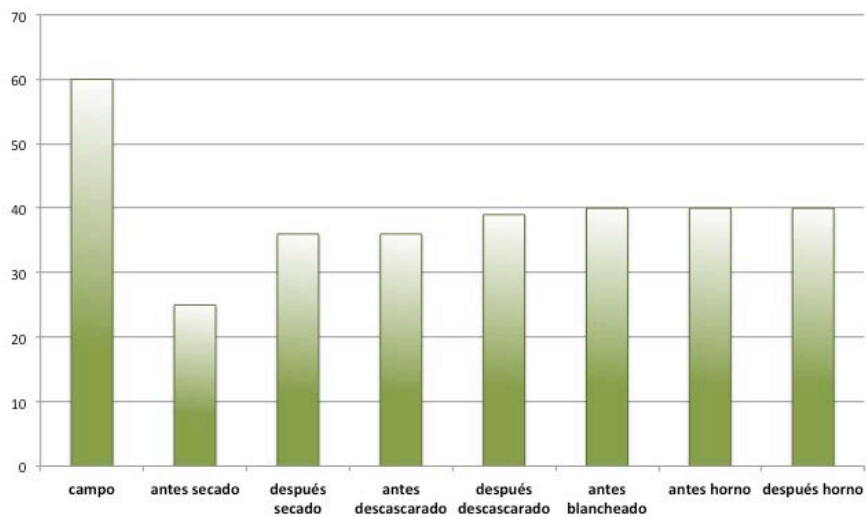




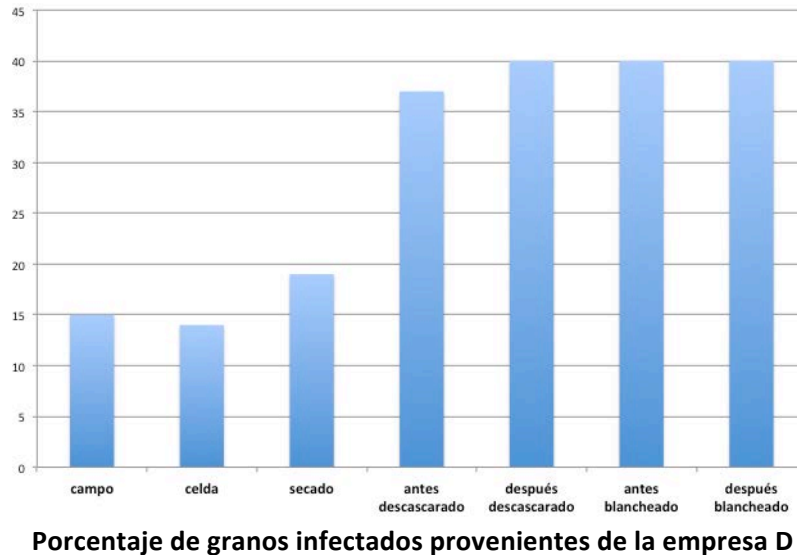
**Porcentaje de granos infectados provenientes de la empresa A**



**Porcentaje de granos infectados provenientes de la empresa B**



**Porcentaje de granos infectados provenientes de la empresa C**



Del análisis comparativo de los resultados se concluye que:

- los granos proveniente de las muestras tomadas en el campo, mostraron mayor porcentaje de infección en las empresas A, B y C.
- a medida que transcurre el procesamiento de los granos se incrementó el nivel de infección de los granos en las cuatro empresas evaluadas.

### Consideraciones finales

- Todas las muestras remitidas presentaban granos con manchas en los sucesivos momentos del procesamiento.
- Las manchas ya estaban presentes en granos de maní con cáscara, quizás pequeñas o poco evidentes; pero a medida que avanzó el procesamiento en planta aumentó su manifestación.
- Los análisis de Tetrazolio, como estrategia metodológica para establecer la dimensión y profundidad del tejido afectado, demostró que el daño correspondía a un área delimitada y superficial.
- Los estudios histológicos en cortes de tejido afectado, corroboraron que el daño en el tejido cotiledonal era superficial, sin afectar pared ni núcleo a nivel celular. Se observó disposición irregular de orgánulos de reserva lo que puede determinar alteraciones de color en el proceso de horneado aumentando la visualización de la mancha.
- Los análisis bacteriológicos indicaron contaminación bacteriana Gram negativa (coincidente la caracterización de procariontes edáficas). Su manifestación fue tanto en áreas con y sin manchas, razón por la cual no pudo establecerse como causal de la aparición de manchas.
- Los análisis sanitarios de granos enteros realizados en cámara de cultivo, pusieron en evidencia alta incidencia fúngica. Es de destacar que el grano con cáscara que ingresa a industria presenta altos valores de contaminación. En general, el porcentaje de granos contaminados se incrementó a medida que avanzó el procesamiento en la empresa.

## Análisis complementarios

A fin de establecer el causal de las manchas blancas en granos de maní se incluyeron muestras complementarias con sus análisis respectivos.

El material biológico evaluado correspondió a:

- granos de maní provenientes de plantas arrancadas en forma manual a los 165 DDS
- granos de maní provenientes de plantas en andana 10 días desde arrancado
- granos de maní provenientes de plantas en andana 55 días desde arrancado

A continuación se muestra el aspecto del interior de las vainas y sus correspondientes granos de acuerdo a los tres momentos evaluados.



Posteriormente se retiró el tegumento a los granos provenientes de cada muestra a fin de observar la posible aparición de manchas blancas. Las observaciones realizadas indicaron:

- los granos de maní provenientes de plantas arrancadas manualmente no presentaron manchas.
- los granos provenientes de plantas que permanecieron 10 días en la andana tampoco evidenciaron manchas; sin embargo se observó en el 15% de los granos el color blanco crema como resultado del daño por contaminación fúngica.
- los granos de plantas con 55 días en andana, mostraron manchas blancas insinuadas y un 10% de granos con alteraciones severas de color (marrones) provocadas por hongos.

Estas observaciones fueron más evidentes cuando los granos fueron sometidos al fritado, aumentando el contraste entre el color de tejido normal y las áreas dañadas.

De acuerdo a lo expuesto y a fin de disminuir la aparición de manchas blancas en granos de maní, se sugiere:

- Reducir el tiempo de permanencia en andana
- Proceder al arrancado e incorporar carros secadores para la disminución del contenido de humedad
- Aumenta la eficiencia en la logística para disminuir el tiempo de permanencia de las vainas de maní en el campo

*Dra. María Alejandra Pérez Agostini  
Lic. Sofía Cuggino  
Ing. Agr. Camila Illa*

*FCA UNC  
Córdoba*