

EPIFITIA CAUSADA POR GROUNDNUT RINGSPOT VIRUS: UN PATÓGENO EMERGENTE EN EL CULTIVO DE MANÍ

de Breuil, S.^{1,2}, Giolitti, F.¹, Bejerman, N.^{1,2}, Trucco, V.¹ y Lenardon, S.^{1,3}

1-Instituto de Patología Vegetal (IPAVE), CIAP-INTA. Camino 60 Cuadras Km 5,5 (X5020ICA) Córdoba. 2-CONICET. 3-Depto Biología Agrícola. Fac. Agronomía y Veterinaria, UNRC, 5800 Río Cuarto, Córdoba.
debreuil.soledad@inta.gob.ar

Introducción

Groundnut ringspot virus (GRSV) es un miembro del género *Tospovirus* que se transmite en la naturaleza a través de los trips de manera persistente propagativa, no habiendo evidencias de su transmisión a través de semillas. GRSV es considerado un virus emergente debido al paulatino aumento de su prevalencia en la última década. Si bien los factores que promueven la emergencia de un patógeno son múltiples y la mayoría de las veces intervienen más de un mecanismo a la vez, en los *Tospovirus* este hecho ha sido correlacionado con un enorme incremento en las poblaciones de los trips vectores y con la intensificación de la agricultura.

En la campaña agrícola 2015/2016 se reportaron varios lotes comerciales de maní con elevados niveles de intensidad de una enfermedad con síntomas característicos del GRSV: severo achaparramiento, proliferación de yemas axilares, disminución del tamaño de los folíolos, y diseños cloróticos, anillos concéntricos, mosaico y/o clorosis severa en hojas, con la consiguiente disminución de la producción (Figura 1).

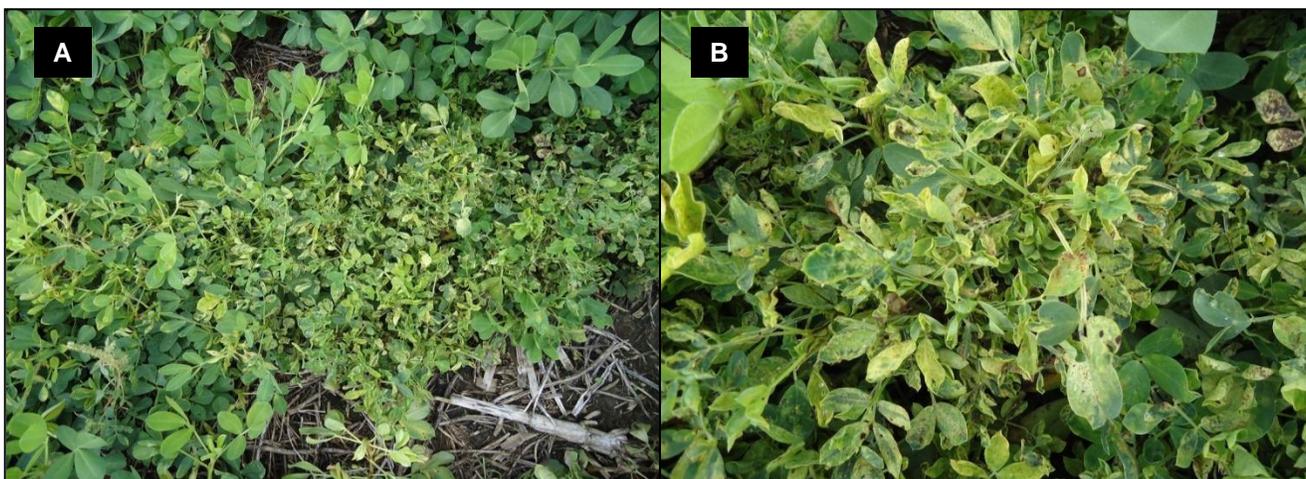


Figura 1. (A) Plantas de maní con severo achaparramiento y (B) síntomas foliares característicos del GRSV.

El objetivo del presente trabajo fue identificar el agente causal de la enfermedad y estudiar su prevalencia, incidencia y distribución geográfica.

Materiales y Métodos

Durante febrero y marzo de 2016 se evaluaron 80 lotes de maní, tomándose muestras de aquellas plantas que manifestaban síntomas característicos de infección viral para su posterior análisis en laboratorio. Todas las muestras colectadas fueron analizadas mediante la técnica serológica de DAS-ELISA utilizando antisueros para dos *Tospovirus* que ocasionan síntomas similares: GRSV (Agdia, Inc.) y *Tomato spotted wilt virus* (TSWV) (Bioreba). Asimismo, la identidad del patógeno fue corroborada mediante distintas pruebas moleculares. Para ello, se seleccionaron 12 muestras para la extracción de ácidos nucleicos totales, los cuales fueron utilizados como templado en las técnicas de RT-PCR (Transcripción Reversa - Reacción en Cadena de la Polimerasa) y RT-PCR-RFLP (Polimorfismo en el Largo de los Fragmentos de Restricción). En la técnica de RT-PCR se utilizaron cebadores específicos para el GRSV que amplifican el gen de la nucleoproteína viral, mientras que la prueba de RT-PCR-RFLP se desarrolló utilizando cebadores que amplifican una porción del genoma de varios *Tospovirus* cuyo posterior patrón de digestión con la enzima *Xba*I permite identificar la presencia del GRSV y/o TSWV en las muestras estudiadas. Una vez identificado el agente etiológico, se determinó su prevalencia y se evaluó la incidencia alcanzada por la enfermedad en 4 lotes de producción ubicados en las localidades de Gral. Cabrera, Manfredi, Va. Reducción y El Crispín. En cada lote, la incidencia se determinó a través de un diseño en W con 5 estaciones en cada brazo separadas por 5 surcos entre sí, y en cada estación se evaluaron 20 plantas seguidas en el surco por presencia/ausencia de síntomas. Por último, se determinó la distribución geográfica del virus a partir del georreferenciamiento de los distintos lotes evaluados.

Resultados y Discusión

Se recolectaron un total de 134 muestras provenientes de maníes sintomáticos de las cuales 117 tuvieron simultáneamente reacción positiva con los antisueros contra GRSV y TSWV, por lo que la identificación del

patógeno se complementó con técnicas moleculares. Por RT-PCR, con los cebadores específicos para GRSV, se amplificó una banda del tamaño esperado (~800pb), lo que implica la presencia de este virus en las muestras analizadas. En adición, por RT-PCR-RFLP se amplificó un segmento genómico de 450pb que luego de la restricción enzimática rindió dos bandas de aproximadamente 323pb y 134pb cada una, patrón que se corresponde con la secuencia genómica del GRSV. Estos resultados nos permitieron identificar al GRSV como el agente causal de la epifitía que se desarrolló en la campaña 2015/2016.

El patógeno fue detectado en 24 de los 80 lotes relevados, acusando un valor de prevalencia del 30%, lo que representa un importante incremento respecto a campañas anteriores (Figura 2).

Cuando se estudió la intensidad alcanzada por la enfermedad en 4 lotes de producción, los valores de incidencia oscilaron entre 3% y 47,25% (Figura 3).

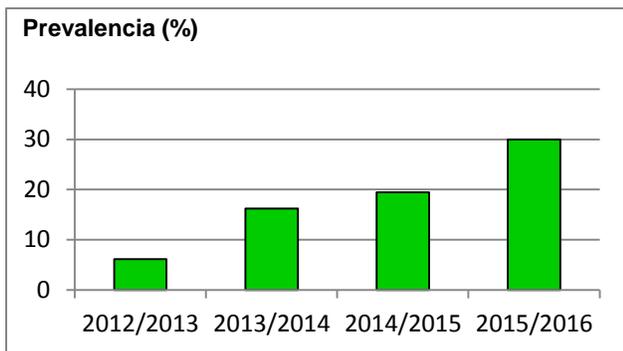


Figura 2. Prevalencia del GRSV (N° de lotes en los que se detectó el virus en función del total de lotes evaluados), desde la campaña agrícola 2012/2013 al presente.

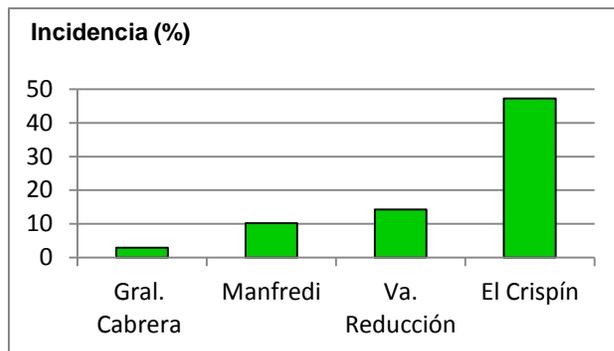


Figura 3. Incidencia del GRSV (N° de plantas infectadas en función del total de plantas evaluadas por lote) en maníes cultivados en distintas localidades de Córdoba.

A su vez, en los lotes evaluados se observaron plantas con diferentes grados de severidad de la enfermedad, lo cual está relacionado con la proporción de trips virulíferos que llegan al cultivo, con la eficiencia de transmisión del patógeno que tiene esa población de vectores y con la dinámica poblacional de los trips que hacen que la enfermedad se presente como policíclica (varios ciclos de infección) durante el periodo fenológico del cultivo. La dinámica poblacional de estos insectos está muy influenciada por las condiciones ambientales de cada región y, en este sentido, cabe destacar que las características epidémicas con que se presentó la enfermedad coincide con la ocurrencia del fenómeno oceánico-atmosférico El Niño, responsable de cambios climáticos que probablemente impacten en las poblaciones de trips a nivel de macro región.

Cuando se estudió la distribución geográfica del patógeno se observó que el mismo estuvo concentrado principalmente a la región centro-norte del área manisera de Córdoba (Figura 4), hecho que concuerda con estudios prospectivos anteriores. Este resultado puede ser causa de diferencias climáticas zonales o también puede deberse a la llegada diferencial de trips en cada región, quedando desierto el conocimiento de la procedencia de los primeros insectos que colonizan el cultivo. Es probable que en la región del norte los insectos arriben desde hospedantes infectados, condición que no ocurre en los lotes del sur de la provincia.

Conclusiones

El manejo de las enfermedades emergentes se basa en el entendimiento de los factores epidemiológicos que promueven su desarrollo y diseminación. Surge entonces la necesidad de investigar las condiciones climáticas que favorecen en nuestra región productiva el crecimiento poblacional de los trips vectores del GRSV.

Agradecimientos

Agradecemos al CIA Gral. Cabrera y Zona, y a los técnicos de AGD por facilitar los lotes de maní para los diferentes estudios. Este trabajo fue financiado con fondos brindados por la Fundación Maní Argentino y el PNIND 1108072 del INTA.

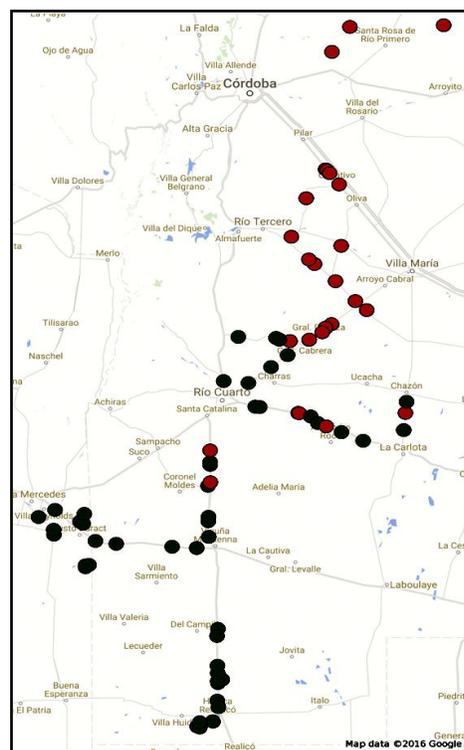


Figura 4. Lotes de maní relevados donde se identificaron plantas infectadas con GRSV (círculos rojos) y lotes donde no se encontraron plantas infectadas con este patógeno (círculos verdes).