

EVIDENCIAS DE Peanut stripe virus EN EL CULTIVO DE MANI

de Breuil, S.^{1,2}; Giolitti, F.²; Bejerman, N.²; Flores, C.R.³; y Lenardon, S.^{2,4}

1-Investigadora del CONICET 2- Instituto de Patología Vegetal (IPAVE), CIAP-INTA. Camino 60 Cuadras Km. 5,5 (X5020ICA) Córdoba.
3- Estación Experimental de Cultivos Tropicales INTA Yuto, Jujuy 4- Depto Biología Agrícola. Fac. Agronomía y Veterinaria, UNRC, 5800 Río Cuarto, Córdoba.
sdebreuil@ciap.inta.gob.ar

Introducción

En la región del noroeste argentino (NOA – provincias de Salta y Jujuy) se encuentra cerca del 3,5% de la superficie implantada con maní en nuestro país, con aproximadamente 7300 ha sembradas por año (promedio de 10 campañas agrícolas: 2001/02 - 2010/11. Fuente: SIIA – MAGyP: www.sii.gov.ar).

En el NOA podemos encontrar dos grupos de productores claramente diferenciados. Un grupo conformado por pequeños productores, algunos incluidos en programas de desarrollo agropecuario, donde el tipo de producción es principalmente familiar y la mayoría de las tareas de campo se realizan en forma manual; en este contexto, el aspecto sanitario no es considerado prioritario. El otro grupo está compuesto por productores que siembran grandes extensiones de cultivo y persiguen mayores márgenes de rentabilidad. Estos productores están altamente tecnificados y consideran la sanidad como una variable productiva de importancia.

Para conocer las virosis presentes en maní en el NOA, durante dos campañas agrícolas consecutivas (2009/2010 y 2010/2011) se llevó a cabo un estudio prospectivo en distintos lotes cultivados. Durante dicho estudio, se observaron plantas que manifestaban síntomas de mosaico severo sistémico, rayas o estrías a lo largo de las nervaduras y manchas verdes en las hojas (Figura 1). Esta sintomatología sugiere la presencia de una virosis no descripta hasta el momento en el cultivo en nuestro país.

El objetivo del presente trabajo fue identificar el agente etiológico de la enfermedad.



Figura 1. Hojas de maní con síntomas de mosaico severo, rayas o estrías a lo largo de las nervaduras y manchas verdes en los folíolos.

Materiales y Métodos

Se evaluaron 18 lotes de producción en los cuales se recolectaron muestras que consistían en brotes jóvenes de plantas que manifestaban alguna sintomatología de infección viral. Las muestras se examinaron al microscopio electrónico de transmisión (MET) mediante la técnica de leaf-dip. Luego, fueron analizadas serológicamente por Dot-blot utilizando un antisuero policlonal (ICRISAT, India) contra Peanut stripe virus (PStV). Por último, se utilizó la técnica de antígeno captura seguida de una RT-PCR dúplex con el kit Access RT-PCR (Promega, Madison, WI) para detectar el PStV y el *Peanut mottle virus* (PeMoV), siguiendo las recomendaciones del fabricante. La amplificación se llevó a cabo empleando 4 cebadores. Un juego de cebadores específicos para PStV: PST1 (5'-GCATGCCCTCGCCATTGCAA-3') y PST2 (5'-GCACACTTCTTGGCATGG-3'), que hibridan en la región 3' no codificante (3'UTR) y en el gen de la cápside proteica (CP), respectivamente. El segundo juego de cebadores, específicos para PeMoV: PeMo14 (5'-GCTGTGAATTGTTGTTGAGAA-3') y PeMo17 (5'-ACAATGATGAAGTTCGTTAC-3'), que amplifican una región del genoma comprendida entre el gen de la CP y el gen de la proteína Nlb, respectivamente. Los parámetros de ciclado fueron: 48 °C por 45 min, 94 °C por 2 min, (40 ciclos de 94 °C por 45 s, 54°C por 45 s, 68 °C por 1 min),

y una extensión final de 68 °C por 10 min. Los productos de amplificación fueron sometidos a electroforesis en gel de agarosa al 2%, teñidos con bromuro de etidio y observados con luz ultravioleta.

Resultados

El análisis al MET reveló la presencia de partículas alargadas flexuosas de aprox. 880 nm de largo, como así también inclusiones cilíndricas características de miembros del género *Potyvirus* (género al que pertenecen PStV y PeMoV). En la prueba de Dot-blot, muestras de maní de distintas procedencias y campañas agrícolas resultaron positivas a la infección, desarrollando una coloración púrpura al reaccionar con el antisero del PStV (Figura 2). En las muestras positivas por Dot-blot, mediante RT-PCR se amplificó un fragmento de unos 234 pb, correspondiente al tamaño esperado para PStV (Figura 3). Por otro lado, en un grupo de muestras se amplificó una banda de aproximadamente 327 pb correspondiente al PeMoV. También fueron detectadas infecciones mixtas con PStV y PeMoV donde ambas bandas fueron amplificadas (Figura 3).

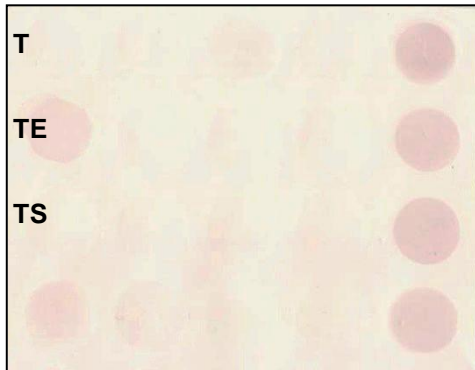


Figura 2. Dot-blot realizado a muestras de maní con el antisero para PStV. T: tampón; TS: testigo sano; TE: testigo enfermo.

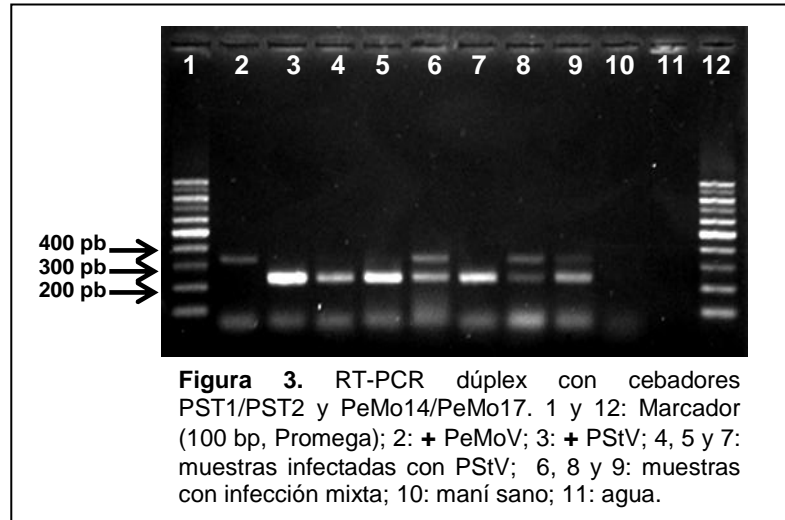


Figura 3. RT-PCR dúplex con cebadores PST1/PST2 y PeMo14/PeMo17. 1 y 12: Marcador (100 bp, Promega); 2: + PeMoV; 3: + PStV; 4, 5 y 7: muestras infectadas con PStV; 6, 8 y 9: muestras con infección mixta; 10: maní sano; 11: agua.

De un total de 35 muestras infectadas con virus, 25 resultaron positivas para PStV, 13 estuvieron infectadas con PeMoV y 3 muestras presentaron coinfección viral. Cabe destacar que el 96% de las muestras positivas para PStV y el 77% de las que resultaron estar infectadas con PeMoV, fueron recolectadas en campos de pequeños productores que utilizaban como simiente los granos cosechados en sus propios lotes o semillas de origen y sanidad desconocidos adquiridas en países limítrofes.

Discusión

Los resultados indicarían la presencia de PStV y PeMoV en maní en el NOA. Ambas especies pertenecen al género *Potyvirus* y ocasionan síntomas similares, por ello, la identidad de estos virus fue verificada mediante la técnica molecular de RT-PCR.

PeMoV se encuentra ampliamente distribuido en las diferentes regiones maniseras, lo que se atribuye a su transmisión por semilla. Por el contrario, no hay citas previas de PStV en nuestro país. Este virus es una raza del *Bean common mosaic virus* (BCMV) que infecta maní. El BCMV ha sido reportado en el NOA en soja y poroto, sin embargo, no existen estudios que hayan esclarecido qué raza del BCMV afecta a estos cultivos.

En la naturaleza, el PStV es transmitido por distintas especies de pulgones de manera no persistente y a través de las semillas, con porcentajes de transmisión de hasta 50%. Es probable que el uso e introducción de semillas no certificadas juegue un rol importante en distintos aspectos epidemiológicos de la enfermedad, como son la ocurrencia, dispersión, diseminación y niveles de incidencia alcanzados por la virosis.

Conclusión

Se detectó la raza Peanut stripe del BCMV infectando naturalmente el cultivo de maní en el NOA. Los estudios futuros se concentrarán en la caracterización molecular de este virus.

Para evitar la diseminación de la enfermedad se recomienda el uso de semillas certificadas libres de virus como práctica preventiva.

Fuente de Financiamiento: PNIND 82511 y AEPV-214012, INTA. Fundación Maní Argentino.