



Fundación  
Maní  
Argentino

“Jornada de Exposición 2017”

# VIROSIS EN MANÍ

## Resultados, logros y avances.

Soledad de Breuil y Sergio Lenardon

---

F. Giolitti, C. Nome, N. Bejerman, A. Giudici, F.R. La  
Rossa, J. Baldessari, V. Trucco, C. Flores, P.  
Rodríguez Pardina, C. Galarza, M.S. Nievas, A.  
Moresi, C. Oddino, M. Kearney, A. Marinelli, G.  
March y demás colaboradores.

WWW.  
FUNDACIONMANI.  
ORG.AR



# PROYECTOS FINANCIADOS POR LA FMA

Proyectos. Responsable: Sergio Lenardon

Monitoreo e identificación de las principales enfermedades virales que afectan el cultivo de maní.

Relevamiento y caracterización de virosis en el cultivo de maní.

Búsqueda de resistencia/tolerancia al *Cucumber mosaic virus* en introducciones de maní

CCT. Responsable: Soledad de Breuil

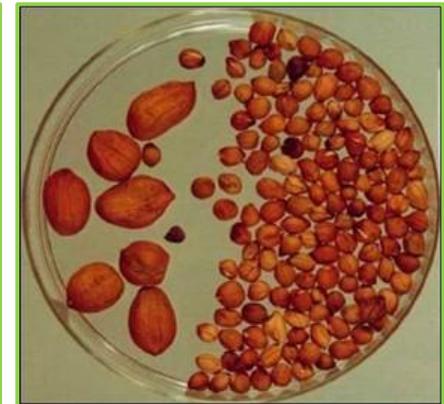
Relevamiento de enfermedades del maní en las provincias de Salta y Jujuy.

Aspectos epidemiológicos del *Groundnut ringspot virus* en el cultivo de maní.

Dinámica de las virosis en la región manisera núcleo del país y caracterización molecular de *Tospovirus*.



# Achaparramiento del maní – *Cucumber mosaic virus* (CMV)



# Caracterización molecular

## Caracterización morfológica

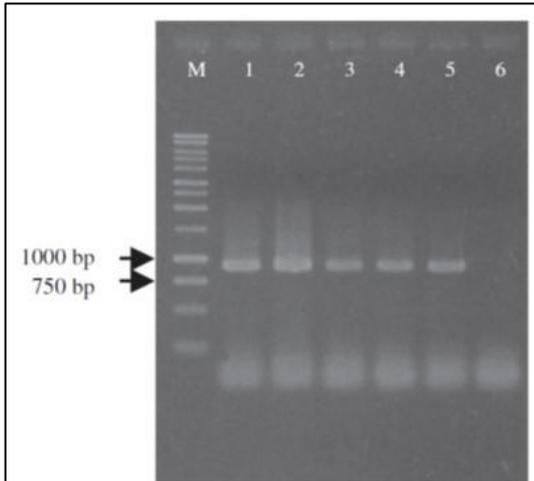
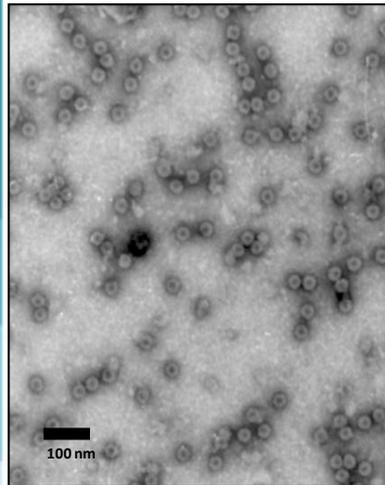


Fig. 2 Analysis of RT-PCR-amplified CMV capsid protein cDNAs. M: 1 kb DNA Ladder marker (Promega); lanes 1-5, leaf extracts of peanut plants with symptoms; lane 6, negative control (healthy peanut)

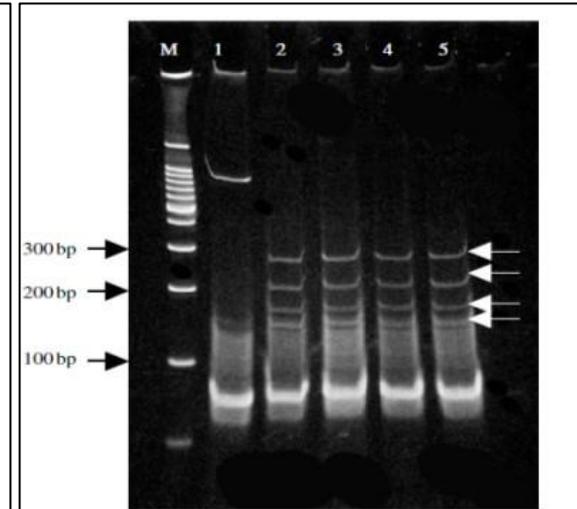


Fig. 3 *MspI* restriction analysis of RT-PCR-amplified CMV products. M: 100 bp DNA Ladder marker (Promega); lane 1, non-digested RT-PCR product; the remaining lanes correspond to *MspI* digests

## Caracterización serológica

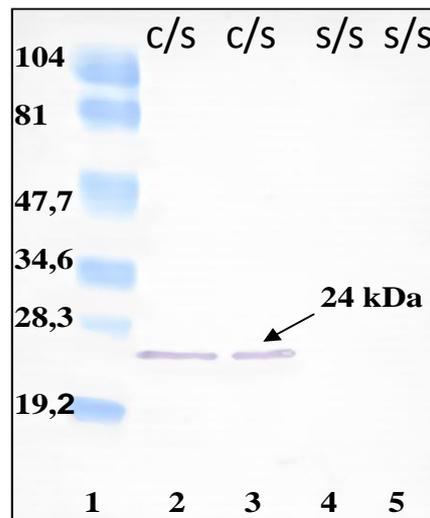
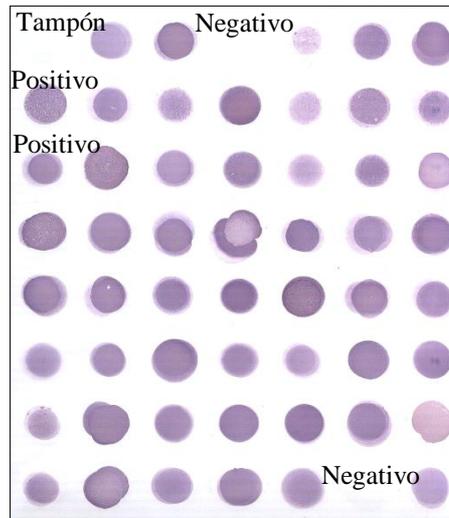


Table 1

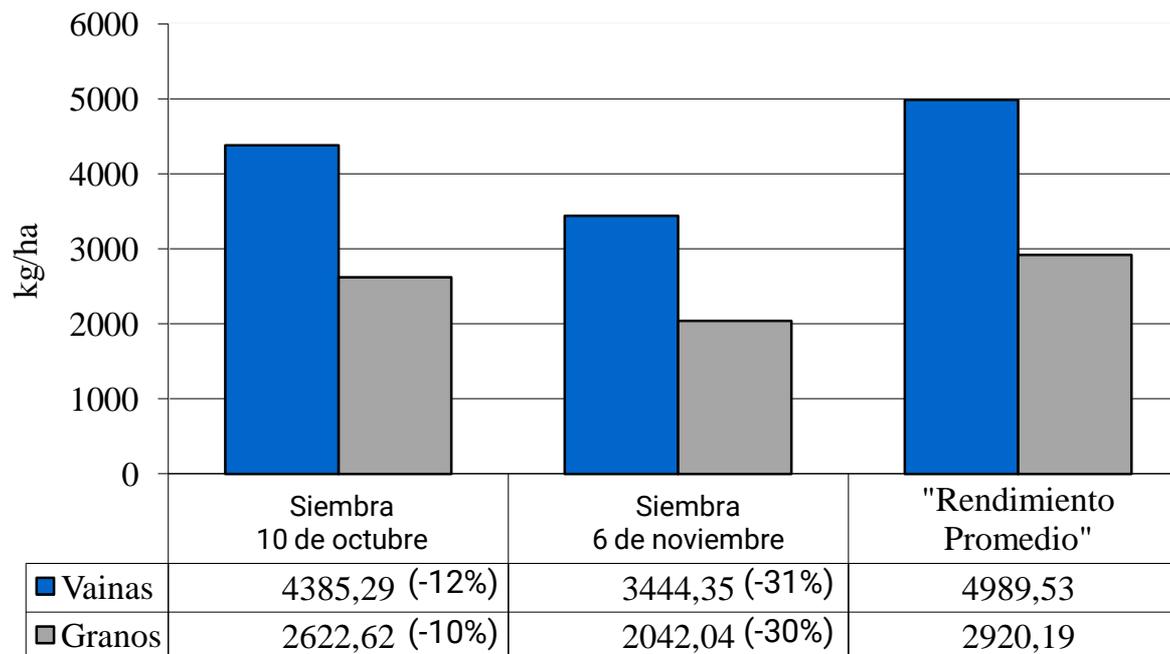
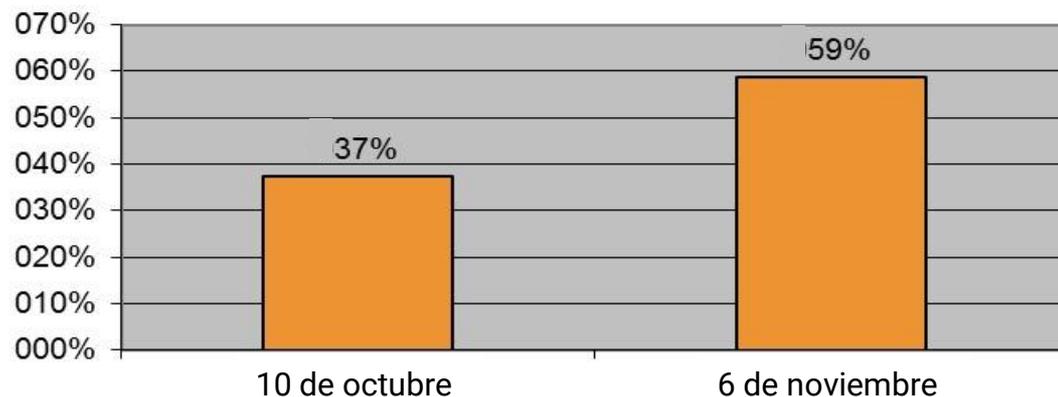
Percentage amino acid homology among the capsid protein of the peanut isolate of CMV (CMV-Pe) and other CMV strains

Strains	Q	WL	S	LS	Fny	D	M	Ny	CS
CMV-Pe	99.5	98.6	97.7	99.5	78.9	79.4	77.1	78.9	79.4
Q		98.2	97.2	99.1	79.4	79.8	77.5	79.4	79.8
WL			96.3	99.1	78.4	78.9	76.6	78.4	78.9
S				97.2	78.0	78.4	76.1	78.0	78.4
LS					78.4	78.9	76.6	78.4	78.9
Fny						99.5	96.8	100	98.6
D							96.3	99.5	98.2
M								96.8	95.4
Ny									98.6
CS									

de Breuil et al., J. Phytopatol. 153:722-725 (2005)



Incidencia (% de plantas infectadas) alcanzada por CMV, en dos lotes de maní con distintas fechas de siembra.





**Table 1.** Yield parameters for plants inoculated at different phenological growth stages (V4-6, V12-16 and R1) with CMV subgroup II, and for healthy control.

Growth stages	Yield parameters						
	Seed yield <sup>Y</sup> (kg ha <sup>-1</sup> )	Pods (No. m <sup>-2</sup> )	Seeds (No. m <sup>-2</sup> )	Seeds per pod	SAW <sup>YZ</sup> (g)	Confectionery peanut (%)	Pod maturity (%)
V4-6	1136.72 a	212 a	359 a	1.59 a	0.32 a	88.5 a	40 a
V12-16	1738.94 b	258 b	455 b	1.65 b	0.37 b	92.3 b	36 a
R1	1938.14 b	274 b	475 b	1.69 b	0.41 c	95.0 c	47 b
Healthy control	2205.06 c	283 b	493 b	1.71 b	0.46 d	95.7 c	58 c

<sup>Y</sup>Based on seeds with 0% moisture.

<sup>Z</sup>SAW: Seed Average Weight.

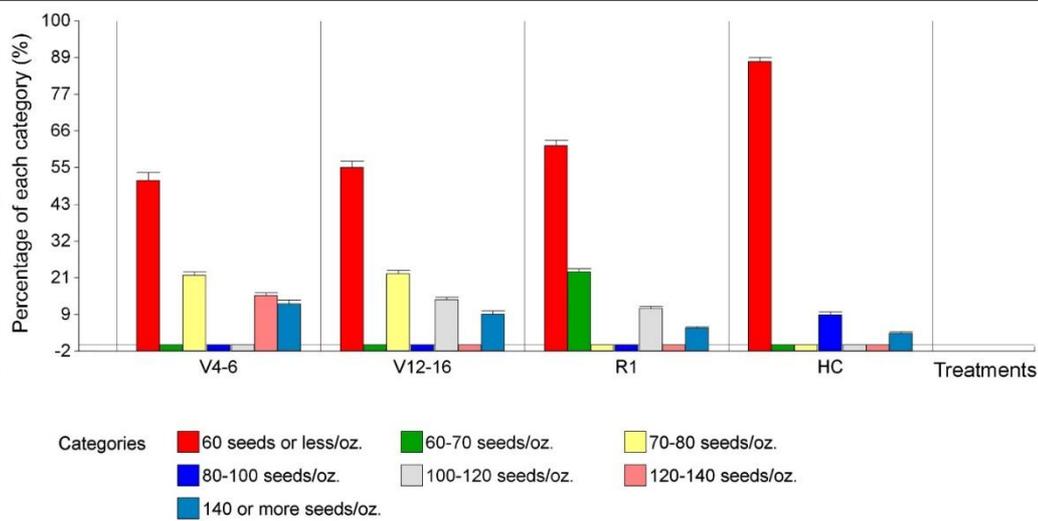
Different letters are significantly different ( $\alpha = 0.05$ ) based on DGC test.

Transmisión por semilla:

valores mayores



semillas de menor calibre

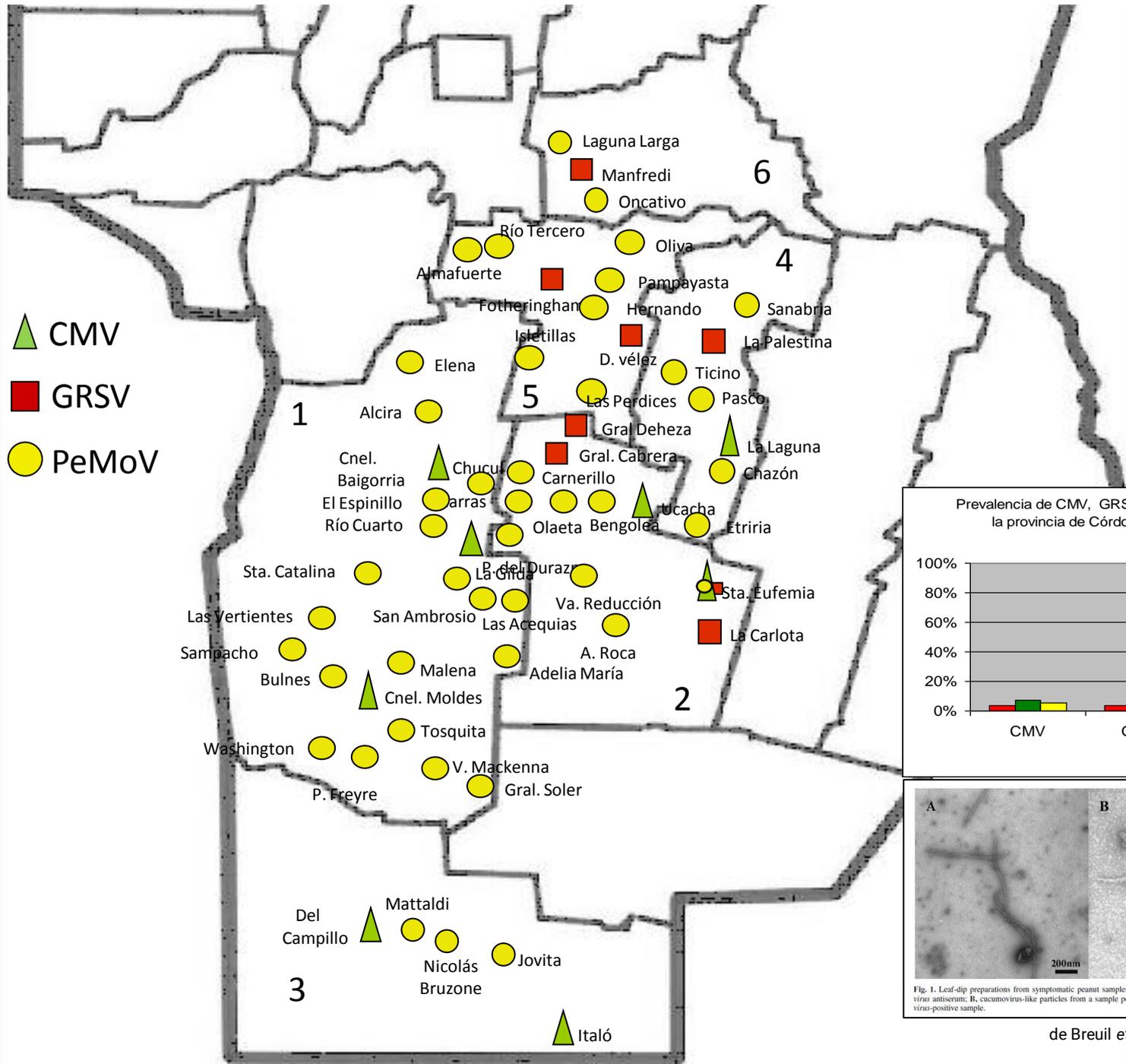


Cv. susceptibles:

- Florman INTA
- Manfredi 505
- Manfredi 484
- ASEM 447
- ASEM 485
- Manigran
- Tegua
- Granoleico

de Breuil et al., J. Plant Pathol. 94:669-673 (2012)





- Departamentos de Cba
1. Río Cuarto
  2. Juárez Celman
  3. Gral. Roca
  4. Gral. San Martín
  5. Tercero Arriba
  6. Río Segundo

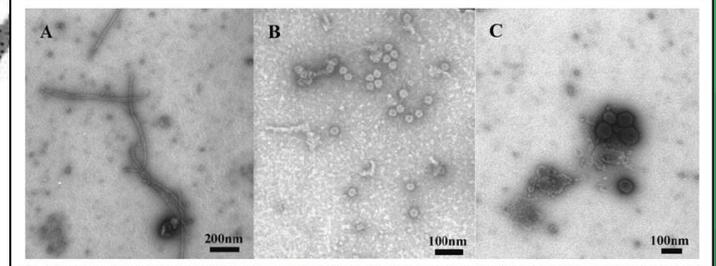
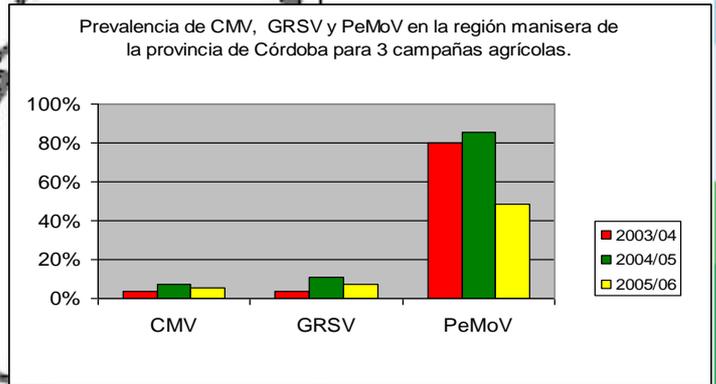


Fig. 1. Leaf-dip preparations from symptomatic peanut samples showing: A, filamentous particles typical of polyviruses tested positive to *Peanut mottle virus* antiserum; B, cucumber virus-like particles from a sample positive for *Cucumber mosaic virus*; C, tospovirus like-particles from a *Groundnut ringspot virus*-positive sample.

Moteado del maní  
*Peanut mottle virus (PeMoV)*



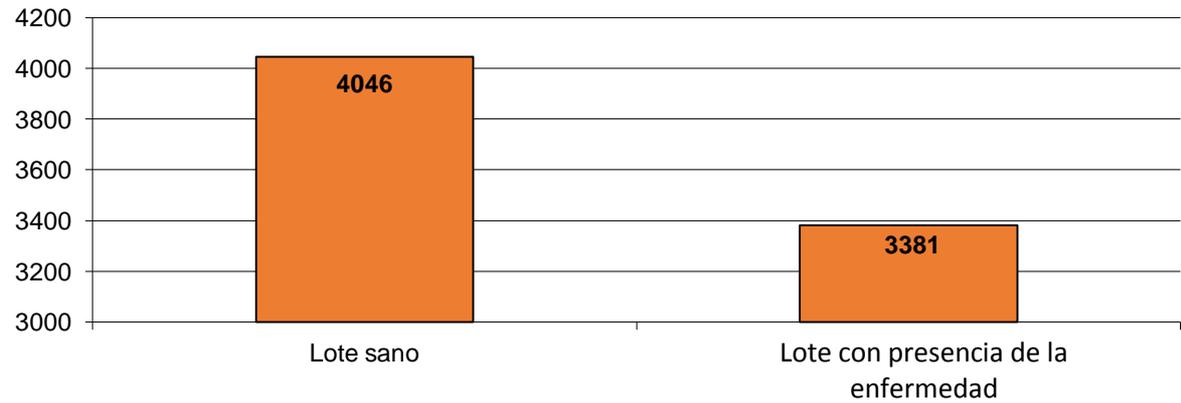
# Necrosis del brote del maní

*Groundnut ringspot virus (GRSV)*





**Estimación del rendimiento en grano (kg/ha) de un lote de maní sano y un lote enfermo con un 18% de incidencia de la virosis.**



**GRSV afecta N° y PMG:**

Kg granos/ha: -16,5%

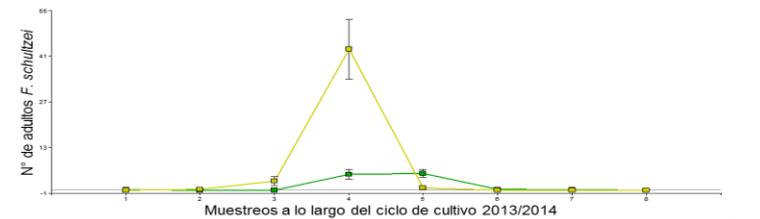
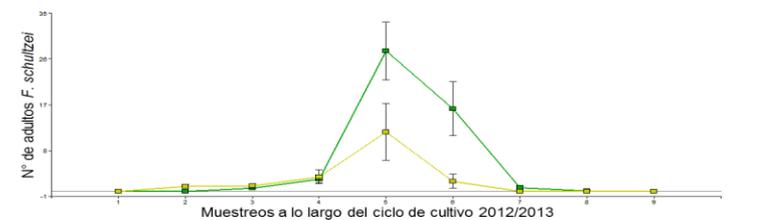
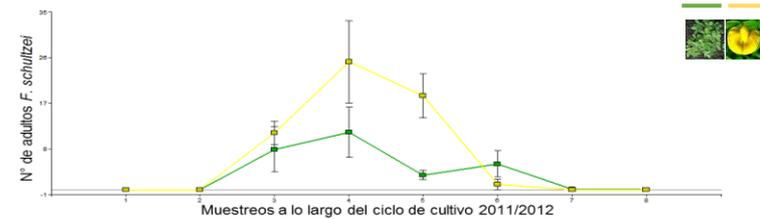
N° granos/ha: -15%

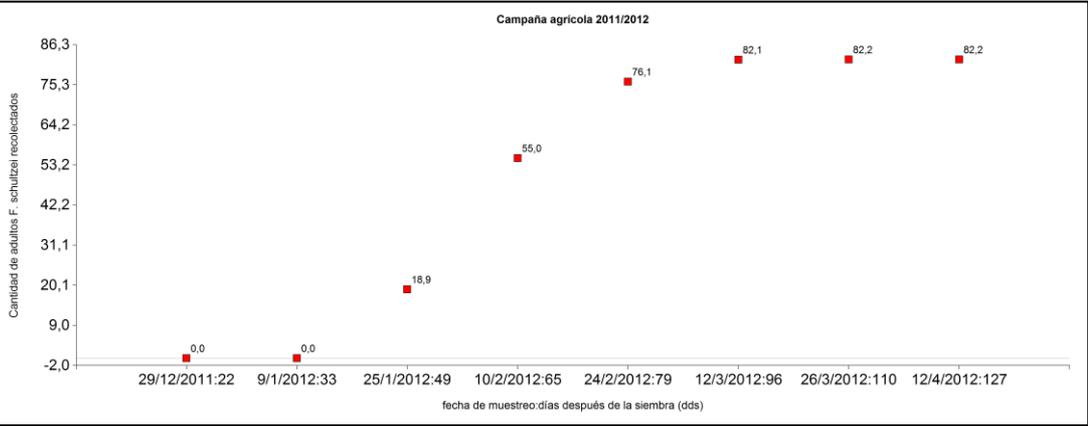
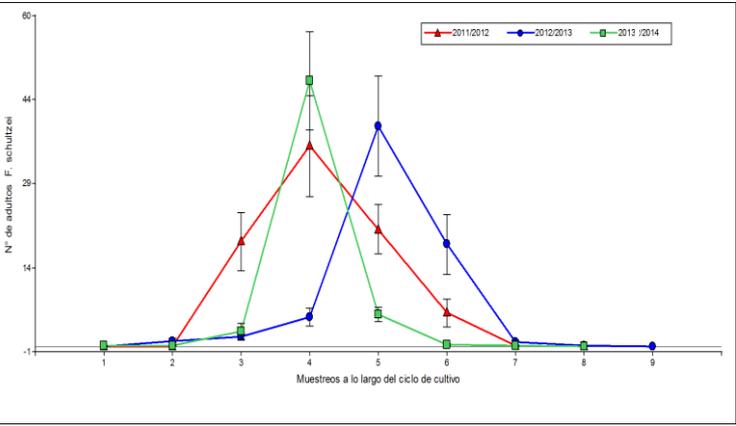




Especies de trips	Campaña agrícola		
	2011/2012	2012/2013	2013/2014
<b><i>Frankliniella schultzei</i> (Trybom)</b>	<b>822</b>	<b>669</b>	<b>571</b>
<i>Caliothrips phaseoli</i> Hood	339	542	185
<i>Frankliniella occidentalis</i> (Pergande)	18	62	1
<i>Thrips tabaci</i> Lindeman	7	1	0
<i>Frankliniella gemina</i> (Bagnall)	0	4	3
Estadios inmaduros (ninfas)	75	16	157

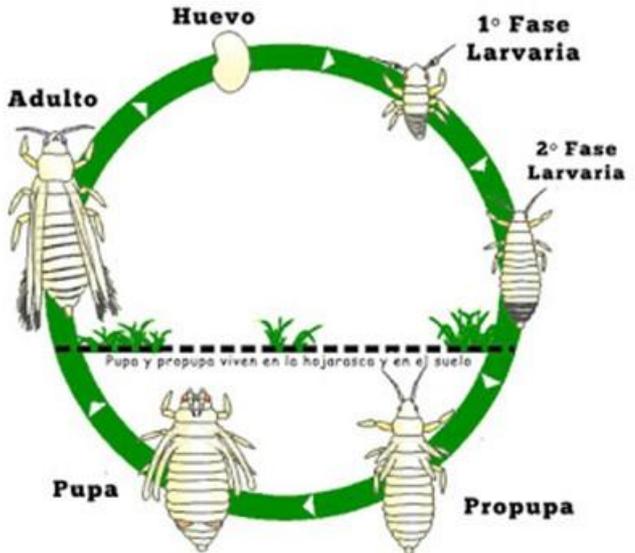
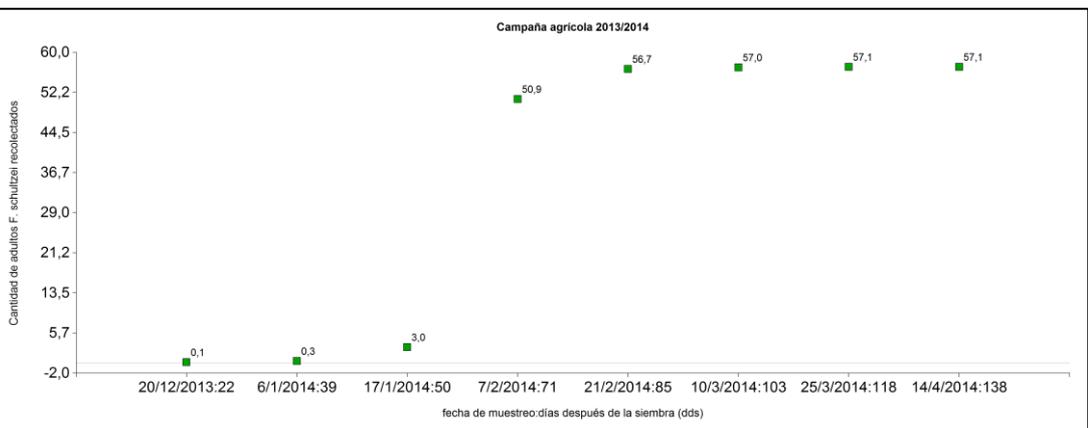
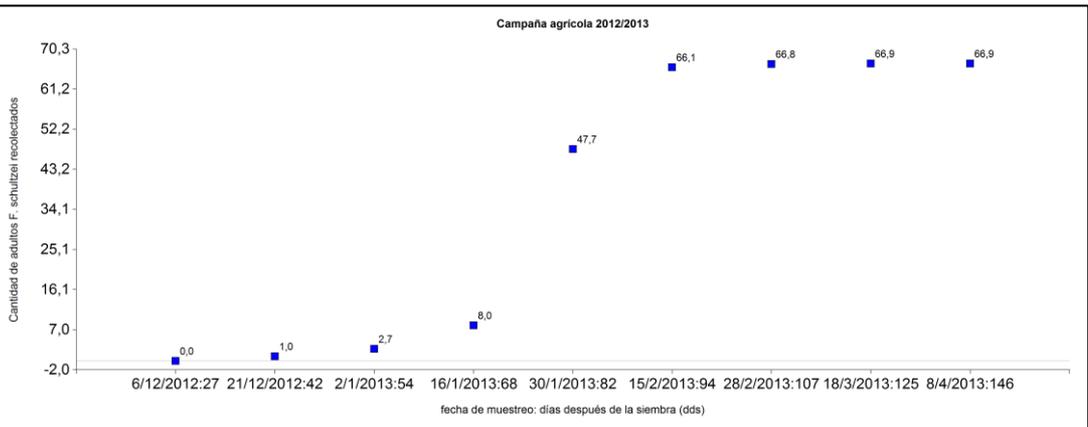
Especies de trips	Campaña agrícola; ubicación de los trips en las plantas					
	2011/2012		2012/2013		2013/2014	
	planta	flores	planta	flores	planta	flores
<i>F. schultzei</i>	269	553	481	188	104	467
masculinos	(41)	(80)	(143)	(107)	(75)	(186)
femeninos	(228)	(473)	(338)	(81)	(29)	(281)
<i>C. phaseoli</i>	334	5	542	0	182	3





### Fechas de siembra

- 7 de diciembre de 2011
- 9 de noviembre de 2012
- 28 de noviembre de 2013



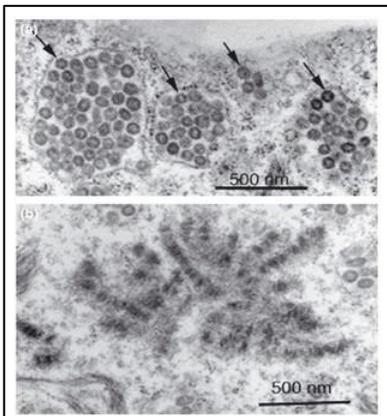


Fig. 2 (a) Electron micrograph of ultra thin sections of peanut (*Arachis hypogaea* L.) leaves infected by *Groundnut ringspot virus*. The arrows indicate virions inside endoplasmic reticulum elements. (b) Electron-dense masses indicate an accumulation of nucleocapsids

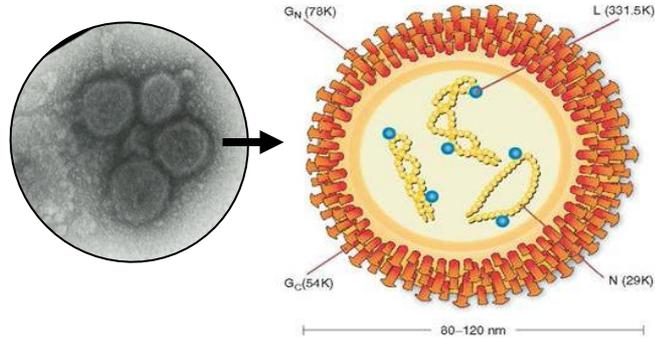
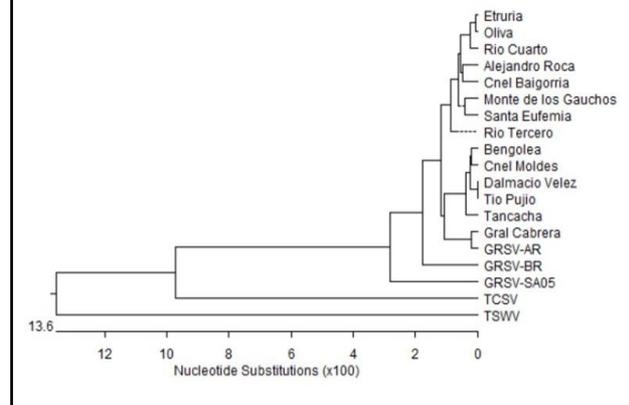


Figure 1. Phylogenetic tree showing relationships of nucleotide sequences of the *N* gene between the GRSV peanut isolates from Córdoba and reported sequences of GRSV, TCSV and TSWV in the GenBank.



de Breuil *et al.*, Agriscientia 31:77-82 (2015)

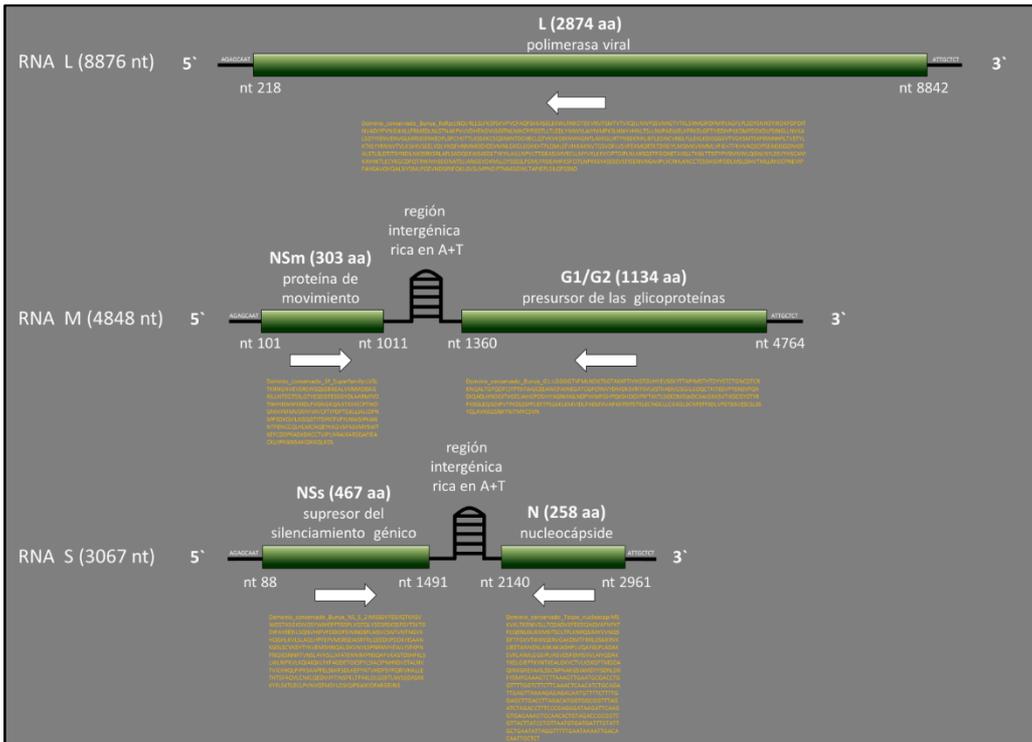
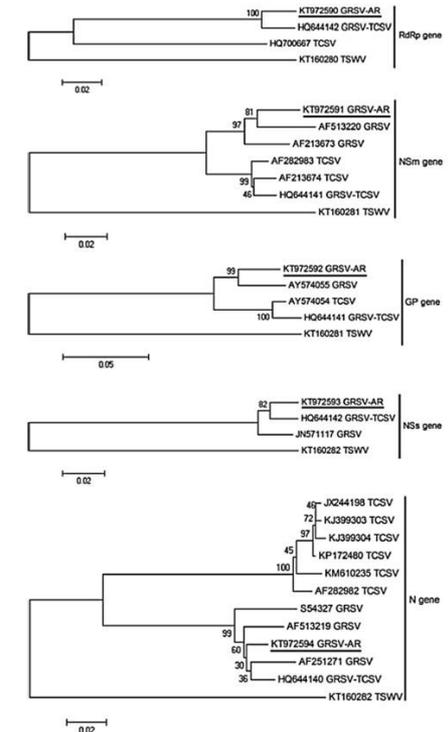
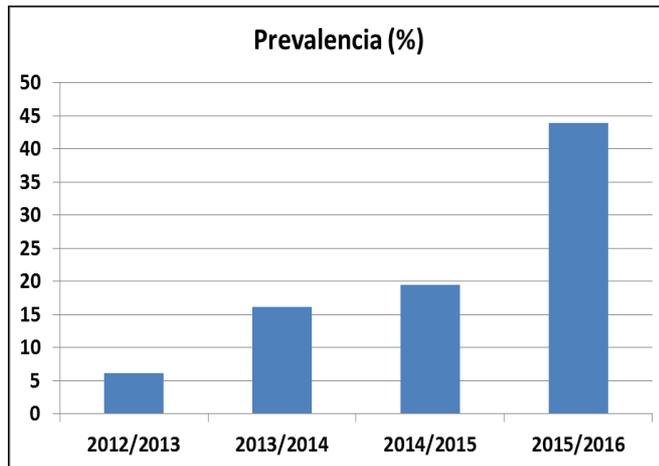


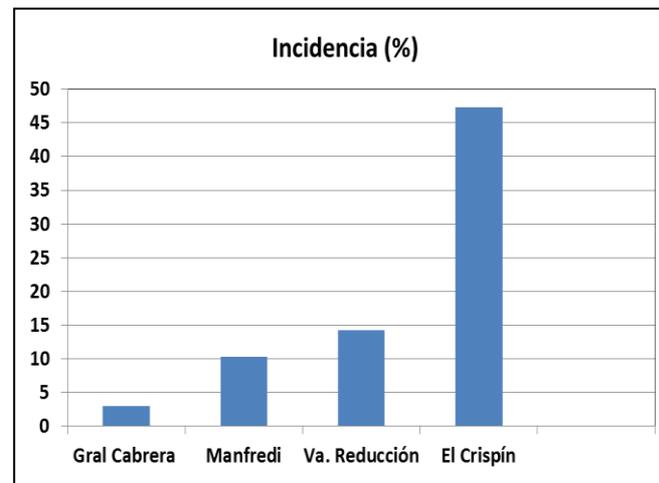
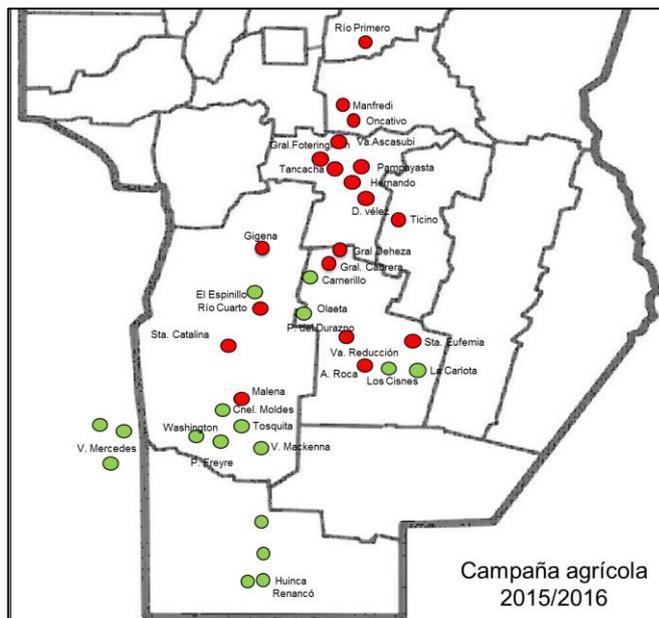
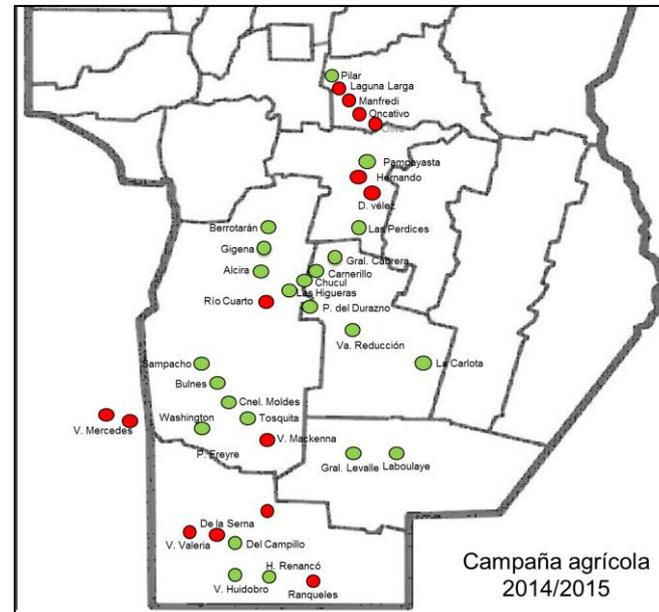
Fig. 1 Phylogenetic reconstruction of GRSV, TCSV and TSWV genes, using the neighbor-joining method in MEGA 6.0. Accession numbers of sequences from GenBank and isolate designations are included for each gene, with the isolate studied in this work (GRSV-AR) underlined in each tree. GRSV-TCSV corresponds to the reassortant L<sub>0</sub>M<sub>0</sub>S<sub>0</sub>. The bar represents the number of substitutions per base



de Breuil *et al.*, Arch. Virol. 161:2311-2316 (2016)



Prevalencia del GRSV durante 4 campañas agrícolas, en la principal región productora de la provincia de Córdoba.



Incidencia del GRSV en lotes comerciales ubicados en diferentes localidades del área manisera de Córdoba (campaña agrícola 2015/2016).

# PROYECTO EN EJECUCIÓN

## Hipótesis de Trabajo

En la principal región manisera del país, las epidemias causadas por el **GRSV** en maní, se deben a la ocurrencia de **condiciones climáticas** propicias para el rápido incremento de la población de trips vectores provenientes de otros **hospedantes infectados**, en combinación con procesos evolutivos que aumentan la **variabilidad genética** del patógeno.

## Objetivos

- 1.- Determinar la correlación entre diferentes parámetros climáticos y la dispersión y dinámica poblacional de especies de trips vectores de *Tospovirus* en el cultivo de maní.
- 2.- Identificar eventos de recombinación y/o reordenamientos genómicos en los diferentes aislamientos obtenidos del GRSV.
- 3.- Estudiar las relaciones filogenéticas entre diferentes aislamientos de GRSV procedentes de distintas regiones geográficas y recolectados en diferentes ciclos agrícolas de cultivo.
- 4.- Evaluar la patogenicidad y virulencia de diferentes aislamientos virales.

# Región NOA (Salta y Jujuy)



*Cowpea mild mottle virus*  
(CPMMV)



Raza Peanut stripe del  
*Bean common mosaic virus*  
(BCMV-PSt)



WWW.  
FUNDACIONMANI.  
ORG.AR



# Región NOA (Salta y Jujuy): virosis de etiología desconocida



Figura 1. (A) Planta de mani de la localidad de Apolinario Saravia positiva por RT-PCR para BCMV-Pst manifestando síntomas sistémicos de moteado severo; (B) Fotografía tomada al MET de un preparado rápido a partir de hojas sintomáticas de la planta donde se observan partículas alargadas flexuosas correspondientes al BCMV-Pst y partículas esféricas de unos 30 nm de diámetro (flechas) pertenecientes a un virus hasta la fecha no identificado.

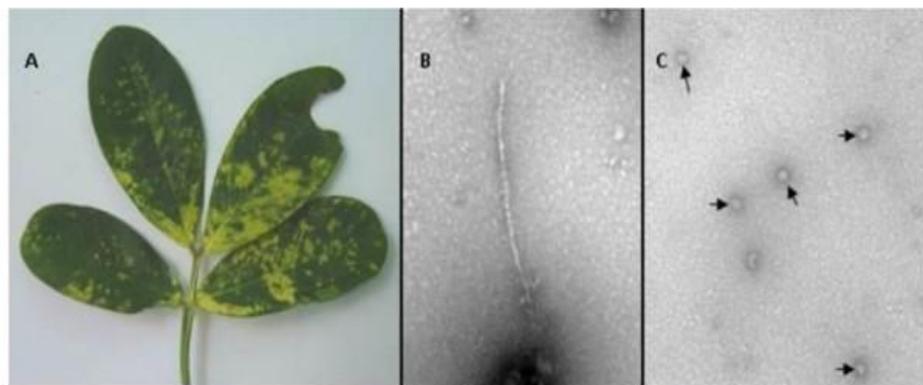


Figura 2. (A) Hoja de mani recolectada en la localidad de Pizarro positiva por serología para CPMMV, manifestando manchas cloróticas en las hojas; (B) Foto de un preparado leaf-dip a partir de tejido sintomático donde se observan partículas alargadas flexuosas pertenecientes al CPMMV; (C) Foto del mismo preparado leaf-dip revelando la presencia de un virus esférico de unos 30 nm de diámetro (flechas) aún no identificado.



Figura 3 (A y B). Plantas de mani manifestando síntomas de severo achaparramiento, superbrotación de yemas axilares, deformación y disminución del tamaño de los folíolos con moteado clorótico sistémico en las hojas.

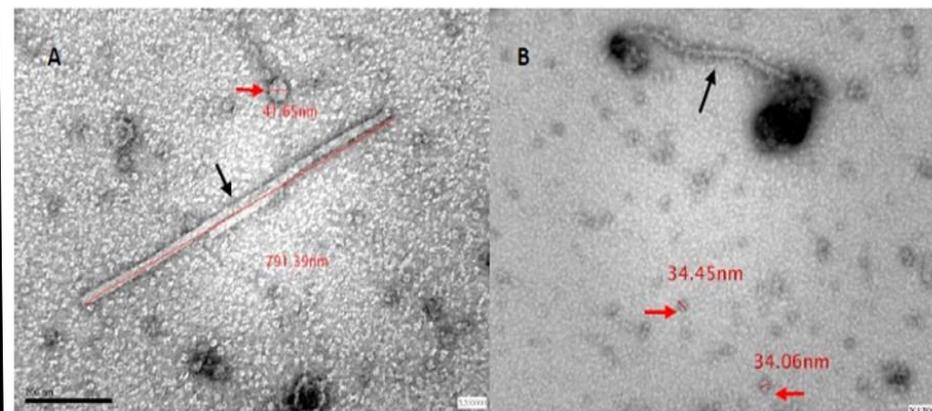


Figura 4 (A y B). Preparados leaf-dip a partir de hojas sintomáticas de mani donde se observan partículas virales elongadas flexuosas (flechas negras) y partículas esféricas de unos 35-40 nm de diámetro (flechas rojas) correspondientes a un virus de identidad desconocida.



# Logros y Resultados

- Se identificaron los virus que infectan naturalmente maní en la principal región manisera del país y en otras áreas de producción.
- Se conocen características biológicas, serológicas, moleculares, etc., de los diferentes patógenos, entre ellas, sus formas de transmisión en la naturaleza.
- Se ha estimado el daño potencial que producen los virus más importantes en el rendimiento del maní.
- Se conoce la prevalencia y la distribución geográfica de cada patógeno en las dos regiones maniseras estudiadas.
- Se han llevado adelante diferentes estudios epidemiológicos (tolerancia/susceptibilidad, hospedantes alternativos, etc.).
- Existe un constante aporte al conocimiento de la epidemiología de cada una de las virosis.



iii Muchas  
gracias !!!



---

WWW.  
FUNDACIONMANI.  
ORG.AR

