

## **VIRUS DEL MAL DE RIO CUARTO: ESTUDIOS DE TRANSMISION POR SEMILLA.**

S. L. LENARDON <sup>1</sup>; A. RAGO <sup>1</sup>; F. GIOLITTI <sup>2</sup>; G. J. MARCH <sup>1</sup>  
y S. F. NOME <sup>2</sup>

### **RESUMEN**

Durante la campaña agrícola 1996/97 se registró en nuestro país la epidemia mas importante del virus del Mal de Río Cuarto en el cultivo de maíz con pérdidas superiores a los \$ 120 millones.

Las diferencias biológicas y moleculares de este virus con otros similares descritos sobre maíz y la presencia de la enfermedad en áreas no endémicas llevaron a considerar el estudio de la posible transmisión del virus por la semilla. Semillas de un híbrido susceptible y uno tolerante afectados por la enfermedad con distintos grados de severidad fueron utilizadas para los distintos ensayos, conjuntamente con semillas de los híbridos originales como control.

Tanto en los ensayos de laboratorio como en los ensayos de campo no se detectaron síntomas de la virosis, resultando negativas las pruebas serológicas de ELISA, excepto en los controles positivos. De acuerdo con los resultados de estos experimentos, el virus del Mal de Río Cuarto no es transmitido por la semilla de maíz.

**Palabras claves:** *Maíz, virus del Mal de Río Cuarto, transmisión por semilla, ELISA*

### **SUMMARY**

#### **MAL DE RIO CUARTO VIRUS: STUDIES OF SEED TRANSMISSION**

The most severe Mal de Río Cuarto epidemic was registered during the 1996/97 agricultural year, and losses were beyond U\$S 120 million.

Biological and molecular differences with other similar viruses infecting maize, and the presence of the disease in non-endemic areas, were determinant factors for undertaking seed transmission studies.

---

<sup>1</sup> Técnicos Investigadores, IFFIVE - INTA. Cno 60 Cuadras Km 5 1/2, 5119, Córdoba. Docentes Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto.

<sup>2</sup> Técnicos Investigadores, IFFIVE - INTA.  
Ingresó para su publicación el 10/VI/98

Seeds from a susceptible and a tolerant cultivar were collected from plants showing various degrees of symptom severity and seeds from original hybrids, as controls, were used in this study. Trials were established under controlled conditions and in the field. Disease symptoms were not detected in any trial and serology ELISA tests were negative. These results indicate that the Mal de Río Cuarto virus is not transmitted by maize seeds.

**Key words:** Maize, Mal de Río Cuarto virus, seed transmission, ELISA.

## INTRODUCCION

El virus del Mal de Río Cuarto (MRCV) fue detectado en Argentina a comienzo de la década del 80, asociándose las partículas por su forma y tamaño al grupo de los reovirus (Nome *et al.*, 1980, 1981; Bradfute *et al.*, 1981). Esta fue la primera mención de una virosis de estas características afectando el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) en el continente americano (Lenardon no publicado).

Estudios de inmunomicroscopía electrónica, que revelaban una débil reacción serológica con el antisuero heterólogo del maize rough dwarf virus (MRDV), y electroforesis del ácido nucleico del virus, que mostraban 10 segmentos de ARN de doble cadena de peso molecular coincidente con este virus, permitieron ubicarlo como una raza del mismo (Milne *et al.*, 1983, Boccardo and Milne, 1984). Sin embargo, test de hibridación molecular, en los que se usaron clones parciales de dos segmentos diferentes del MRCV, y clones parciales y completos pertenecientes a cuatro segmentos distintos del MRDV mostraron evidencias que ambos virus no estarían cercanamente relacionados (Marzachi *et al.*, 1995).

El MRCV es transmitido naturalmente por el *Homoptera-Delphacidae* *Delphacodes kuscheli* Fennah (Lenardon *et al.*, 1985, Remes Lenicov *et al.*, 1985), mientras que el MRDV es transmitido por *Laodelphax striatellus* Fallén (Harpaz, *et al.*, 1965; Conti, 1966), vector no presente en la zona endémica (Ornaghi *et al.*, 1993).

Durante la campaña agrícola 1996/97 ocurrió la epidemia más importante del MRCV, registrándose pérdidas estimadas en alrededor de U\$S 120.000.000 (Lenardon *et al.*, 1998). En base a las diferencias moleculares y biológicas que existen entre este virus y los otros miembros oportunamente descritos, la dispersión de la enfermedad hacia las principales áreas productoras de maíz donde la misma no era considerada endémica, y la inquietud de semilleros y productores sobre la alternativa de transmisión de este virus por semilla, se consideró oportuno estudiar la posible transmisión del MRCV a través de la semilla.

## MATERIALES Y METODOS

### Fuente de semilla

Durante la campaña agrícola 1996/97 se evaluó la incidencia y severidad del Mal de Río Cuarto (MRC) en un ensayo de híbridos de alta productividad

ubicado en el área del CREA Monte Buey - Inrville (Provincia de Córdoba). Al estado de grano pastoso-blando se marcaron plantas con los distintos grados de severidad de la escala reducida de 0 - 3 (March *et al.*, 1997), en un híbrido susceptible (P-3457) y en uno tolerante (DK-664) al MRC. Las espigas de las plantas afectadas con los distintos grados de severidad fueron desgranadas manualmente y las semillas (F2) utilizados como simiente en la temporada 1997/98. Asimismo se utilizó también semilla original (F1) de ambos híbridos como testigos.

#### **Ensayo de transmisión por semilla en laboratorio**

Semillas obtenidas desde cada híbrido (F2) con los distintos grados de severidad (100), y semillas del híbrido original (F1) de cada uno de ellos (100) fueron colocadas sobre papel de filtro humedecido con agua estéril en cajas de petri estériles. Las cajas se incubaron en estufa de cultivo a  $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$  hasta emergencia de radícula y coleoptile.

#### **Ensayo de transmisión por semilla bajo condiciones de campo**

Semillas obtenidas de los híbridos susceptibles y tolerantes (F2) a partir de distintos grados de severidad (100), y semillas del híbrido original (F1) de cada uno de ellos (100) fueron sembradas el 9 de octubre de 1997 en una jaula protegida con tela de malla N°30. Desde emergencia las plantas fueron tratadas semanalmente y hasta evaluación final con el insecticida lambdacialotrina.

#### **Evaluación de la enfermedad**

Todas las plantas del ensayo bajo condiciones de campo fueron evaluadas individualmente al estado de grano pastoso-blando, para determinar incidencia y severidad de la enfermedad (March *et al.*, 1997).

#### **Ensayo serológico**

Para detectar la presencia del virus del MRC en tejidos de plántulas y plantas adultas se siguió la técnica serológica de DAS-ELISA (Clark and Adams, 1977), utilizando un antisuero específico contra el mismo. Muestras de radículas y coleoptiles de las plántulas del ensayo de laboratorio y raíces de las plantas del ensayo de campo (25 por cada tratamiento), fueron sometidas a este test (Giménez Pecci *et al.*, 1990).

Las muestras fueron consideradas positivas cuando el valor de absorvencia a 405 nm fueron mayores que la media de los controles sanos más tres veces la desviación standard.

## **RESULTADOS**

Tanto en las semillas de los híbridos originales (F1) como en las semillas (F2) afectadas por MRCV del cultivar tolerante (DK-664) y del cultivar susceptible (P-3457), no se detectó la presencia de la enfermedad.

En ninguna de las variantes estudiadas en el ensayo bajo condiciones de campo se observaron plantas con síntomas de la enfermedad.

Las medias de absorvencia a 405 nm para cada tipo de semilla híbridos originales (F1) y (F2) de ambos materiales (híbrido tolerante y susceptible) tanto en los coleoptiles y radículas obtenidos desde el ensayo de laboratorio, como en las raíces de plantas al estado de grano pastoso-blando, resultaron negativos en todos los casos. Los testigos sanos y el buffer control resultaron también negativos, mientras que los testigos enfermos fueron los únicos positivos (Cuadros 1 y 2).

**Cuadro 1.** Absorvencia media de embriones provenientes de semilla original (F1) y de F2 (distintos grados de severidad) de un híbrido susceptible y uno tolerante al virus del MRC.

Muestra (*)	Absorvencia media a 405	ELISA +/-
Dekalb 664 original (F1)	0.033	-
Dekalb 664 - 0 (F2)	0.030	-
Dekalb 664 - 1 (F2)	0.029	-
Dekalb 664 - 2 (F2)	0.018	-
Dekalb 664 - 3 (F2)	0.018	-
Pioneer 3457 original (F1)	0.029	-
Pioneer 3457 - 0 (F2)	0.024	-
Pioneer 3457 - 1 (F2)	0.018	-
Pioneer 3457 - 2 (F2)	0.020	-
Pioneer 3457 - 3 (F2)	0.017	-
Testigo sano	0.007	-
Buffer	0.014	-
Testigo enfermo	1.094	+

**Cuadro 2.** Absorvencia media de raíces de plantas provenientes de semilla original (F1) y de F2 (distintos grados de severidad) de un híbrido susceptible y uno tolerante al virus del MRC.

Muestra (*)	Absorvencia media a 405	ELISA +/-
Dekalb 664 original (F1)	0.016	-
Dekalb 664 - 0 (F2)	0.021	-
Dekalb 664 - 1 (F2)	0.001	-
Dekalb 664 - 2 (F2)	0.001	-
Dekalb 664 - 3 (F2)	0.013	-
Pioneer 3457 original(F1)	0.019	-
Pioneer 3457 - 0 (F2)	0.017	-
Pioneer 3457 - 1 (F2)	0.011	-
Pioneer 3457 - 2 (F2)	0.005	-
Pioneer 3457 - 3 (F2)	0.010	-
Testigo sano	0.017	-
Buffer	0.018	-
Testigo enfermo	1.209	+

## DISCUSION

Recientemente el virus del MRC ha ocasionado pérdidas millonarias a la producción de maíz en las provincias de Córdoba, Santa Fe y Buenos Aires (Lenardon *et al.*, 1998). Las mismas se han generado por daños totales y/o parciales en lotes de maíz y los productores agropecuarios han manifestado su gran preocupación por la posibilidad de transmisión de la enfermedad por semilla.

Los resultados del presente estudio demuestran claramente que las semillas originales (F1) de un cultivar tolerante y uno susceptible y las semillas F2 de un cultivar tolerante y uno susceptible provenientes de plantas con distintos grados de severidad no manifiestan evidencias de la presencia del virus tanto

en coleoptile como en radícula. Además, cuando las mismas semillas fueron sembradas bajo condiciones de campo se desarrollaron plantas normales y no se observó ningún síntoma de la enfermedad. Asimismo, los análisis serológicos por DAS-ELISA de raíces de estas plantas fueron en su totalidad negativos a la presencia del virus.

Resultados semejantes a los del presente estudio se han obtenido con virosis similares al virus del MRC en otros países (Harpaz, 1972; Conti, 1984). Las evidencias registradas descartarían totalmente la transmisión del virus del MRC por esta vía, quedando solamente el vector *D. kuscheli* como responsable epidemiológico en la dispersión de esta enfermedad.

## AGRADECIMIENTOS

Al convenio INTA - JICA (Japan International Cooperation Agency) por la provisión de infraestructura para la realización de este trabajo.

## BIBLIOGRAFIA

**Boccardo, G. and Milne, R.G.;** 1984. Plant reovirus group. *Descriptions of Plant Viruses*, 294.

**Bradfute, O.E.; Teyssandier, E.E.; Marino, E.M. and Dodd, J.L.;** 1981. Reolike virus associated with maize Río Cuarto disease in Argentina. *Phytopath.* 71: 205 (Abst.).

**Clark, M.F. and Adams, A.N.;** 1977. Characteristic of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475-483.

**Conti, M.;** 1966. Indagini sulla trasmissione del Virus del nanismo ruvido del mais (MRDV) per mezzo di *Leodelphax striatellus* Fallén. *Ann. Fac. Sci. Agr. Univ. Torino*, 3:337-348.

**Conti, M.;** 1984. Epidemiology and vectors of plant reolike viruses, in *Current Topics in Vector Research Vol.2*, Edited by Kerry F. Harris. New York. Praeger Publishers.

**Gimenez Pecci, M.P.; Conci, L.R.; Valdivia, B.; Conci, V.C.; Hopp, H.E.; Laguna, I.G. y Nome, S.F.;** 1990. Algunas Alternativas de Diagnóstico del Virus del "Mal de Río Cuarto" (Maize Rough Dwarf Virus). *Taller de Actualización sobre Mal de Río Cuarto*. pags 78-86.

**Harpaz, I.;** 1972. Maize rough dwarf. Jerusalem: Israel Universities.

**Lenardon, S.L.; March, G.J.; Nome, S. F. and Ornaghi, J.A.;** 1998. Recent Outbreak of "Mal de Río Cuarto" on Corn in Argentina. *Plant Disease* 82: 4.

**Lenardon, S.L.; March, G.J.; Ornaghi, J.A. y Beviacqua, J.E.;** 1985. Mal de Río Cuarto, Jornada de Actualización de Virosis del maíz en Argentina. Centro de Investigación Northrup King Semillas S. A., 15 pp.

**March, G.J.; Ornaghi, J.A.; Beviacqua, J.E. y Lenardon, S.L.;** 1997. Manual Técnico del Mal de Río Cuarto. Ed. Morgan, Tecnología Mycogen. 41 pags.

**Marzachi, C.; Boccardo, G.; Milne, R.; Isogai, M. and Uyeda, I.;** 1995. Genome structure and variability of Fijiviruses. *Seminars in Virology* 6:103-108.

**Milne, R.G.; Boccardo, G.; Dal Bo, E. and Nome, S.F.;** 1983. Association of maize rough dwarf virus with "Mal de Río Cuarto" in Argentina. *Phytopath.* 73 : 1290-1292.

**Nome, S.F.; Lenardon, S.L.; Raju, B.C.; Laguna, I.G.; Lowe, S.K. and Docampo, D.;** 1981. Association of reovirus-like particles with "Enfermedad de Río Cuarto" of maize in Argentina. *Phytopath. Z.* 101 : 7-15.

**Nome, S.F.; Lenardon, S.L.; Laguna, I.G.; Lowe, S.K. y Docampo, D.M.;** 1980. Partículas de virus (reovirus) asociadas al "Mal de Río Cuarto" en cultivos de maíz. *Serie Didáctica* 3: 1-7. Fac. Cs. Agrop., UNC.

**Ornaghi, J.A.; Boito, G.; Sánchez, G., March, G. J. and Beviacqua, J.E.;** 1993. Studies on the populations of *Delphacodes kuscheli* Fennah indifferent years and agricultural areas. *J. Genet. & Breed.* 47 : 277-282.

**Remes Lenicov, A.M.M. de; Teson, A.; Dagoberto, E. y Huguet, N.;** 1985. Hallazgo de uno de los vectores del Mal de Río Cuarto del maíz. *Gaceta Agronómica* 25:251-258.