

Biología molecular del virus del rayado fino del maíz*

Pedro León y Rodrigo Gámez

Centro de Investigaciones en Biología Celular y Molecular. Universidad de Costa Rica.

(Recibido: 18 de junio de 1985)

Abstract: A condensed report of research on the molecular biology of Maize Rayado Fino Virus is offered, along with a tentative model for the capsid structure that fits the biochemical analysis of this virus. Given the existence of two capsid proteins present in a 7:1 mass ratio it is suggested that in MRFV the major protein forms the closed icosahedral shell while the minor protein component is located externally.

El VRFM fue descubierto por Gámez (1969; 1980) en Costa Rica y posteriormente ha sido localizado en todas las Américas desde el Trópico de Cáncer hasta el Trópico de Capricornio (Gámez *et al.*, 1979). Gámez (1969; 1973) demostró la transmisión por chicharritas del género *Dalbulus*, siendo *D. maidia* el principal vector, que también transmite espiroplasmas y micoplasmas del complejo del achaparramiento del maíz. La transmisión simultánea de estos tres patógenos inicialmente impidió relacionar al agente causal con el complejo de síntomas del achaparramiento (Ancalmo y Davis, 1961). Se demostró que el rayado fino de la hoja, que se suponía como síntoma temprano del achaparramiento, se debía exclusivamente al efecto del VRFM.

El VRFM es un patógeno que infecta todas las razas y variedades de maíz hasta ahora probadas, produciendo un rayado fino clorótico en la lámina foliar (Gámez, 1969), y una infección sistémica en la planta (Gámez y León, 1984). El virus no es transmitido por las semillas de plantas infectadas, por lo que depende exclusivamente del insecto vector para su transmisión de una planta a otra.

El VRFM es transmitido en forma persistente por el vector, en el cual el virus también se multiplica (Gámez, 1973; Rivera *et al.*, 1981). El VRFM es el único virus pequeños conocido con esta doble propiedad de reproducirse en

dos tipos de células tan diferentes. Recientemente, el VRFM ha sido designado tipo de un nuevo grupo de virus de plantas, en el que se incluye un virus de la cebada de Norteamérica (León y Gámez, 1981) y un virus africano recién descubierto (Lockhardt *et al.*, 1984).

La notoria especialización del VRFM al maíz y a *D. maidia* y la de este insecto también al maíz, ha originado un trío de interacciones entre estos organismos cuyas características biológicas sugieren que han coevolucionado en el tiempo (Gámez y León, 1983; 1985).

Propiedades de las proteínas de la capsida del VRFM

Se han aislado dos polipéptidos (León y Gámez, 1981; Gingery *et al.*, 1982) de peso molecular 22,000 kd y 28,000 kd, designados respectivamente p22 y p 28. de cápsides purificadas del VRFM (Fig. 1). Tanto en cápsides llenas como vacías la p28 se encuentra siempre en menor proporción, según la relación estimada en geles de acrilamida teñidos con Coomassie azul y trazados con un densitómetro. En la Fig. 2 se ofrece un trazado de un gel cilíndrico de 12 cm, que presenta una relación de masas de 7/1 para [p22] { p28}, estimada midiendo el área de cada pico. En estudios recientes (P. León, E. Moreno, L. Taylor y R. Gámez MS en preparación) hemos observado patrones peptídicos similares entre las dos proteínas.

* Presentado en el Primer Seminario Nacional de Microscopia Electrónica, San José, Costa Rica, 1984.

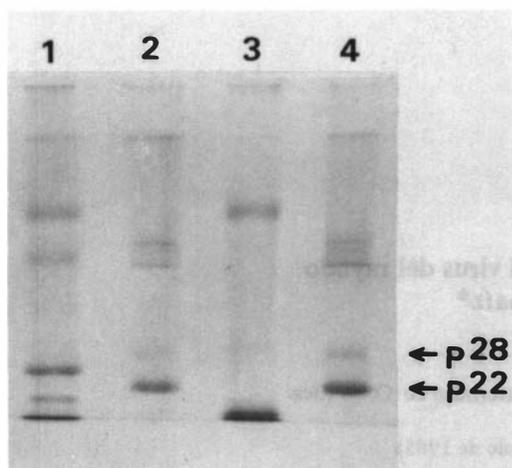


Fig. 1. Proteínas del VRFM separadas en un gel de acrilamida de 12.5% y teñidas con Coomassie azul, tal como se describe en León y Gámez (1981). En el primer y tercer carril se corrieron proteínas marcadoras. Las proteínas virales se indican con flechas. Los multiméritos son las bandas de menor movilidad que no se señalan.

Sin embargo algunas observaciones indican que la p28 es más antigénica (Ramírez *et al.*, 1983) y presenta epitopios diferentes. En condiciones poco desnaturizantes se detectan en los geles asociaciones multiméricas (Fig. 1) con pesos moleculares correspondientes a $2 \times p22$ y otras aún no determinadas. La presencia de trímeros de las proteínas de la cápside es consistente con la supuesta simetría del virus propuesta por Gámez *et al.*, (1981), en que estos ocupan posiciones cuasiequivalentes para formar la cápside viral, con simetría 5:3:2 y número de triangulación $T = 3$.

Propiedades del ácido nucleico del VRFM y su expresión *in vitro*

La presencia de un ARN de hebra simple como genoma viral fue demostrada por León y Gámez (1981) y Gingery *et al.*, (1982) inicialmente y confirmada por Espinoza (1983) en investigaciones sobre la expresión *in vitro* del ARN viral. Espinoza (1983) descubrió que el ácido nucleico purificado es un fuerte estimulador del sistema de reticulocitos de conejo previamente tratado con nucleasa micrococcal, dirigiendo la síntesis de un polipéptido de alto peso molecular, equivalente a $2/3$ partes del potencial codificante. Otras propiedades del ARN han sido estudiadas recientemente en columnas

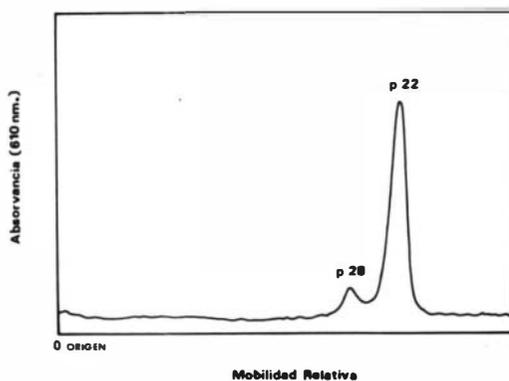


Fig. 2. Densitometría de un gel cilíndrico cargado con cápsides del VRFM y teñido con Coomassie azul. El densitómetro integra el área debajo de cada pico que corresponde a la relación de masas, con lo cual se estima la relación molar $(p. 22)/(p.28)$.

de oligo(dT)-celulosa (A.M. Espinoza, P. Ramírez y P. León, información no publicada). En estas columnas el ARN no es retenido posiblemente por no presentar una cola de poli(A) en la punta 3', como muchos virus de plantas.

Modelo de la Cápside de VRFM

Un conocimiento preciso de la organización de las partículas del VRFM requerirá de estudios cristalográficos y ultraestructurales, aún por efectuarse. Mientras tanto los estudios de la composición protéica imponen ciertas limitaciones sobre las propuestas que puedan hacerse acerca de la organización de la cápside. Suponiendo que la cápside requiere de 180 proteínas para formar el polihedro cerrado, organizadas estas en 20 hexámeros y 12 parámetros, la presencia de dos proteínas en cantidades no-equimolares, presenta serios problemas. Con una proporción de masa de 7/1 para la p22 sobre la p28, el modelo más compatible supone la presencia de 180 copias de p22 formando la estructura cerrada y 20 copias de la p28, una por hexámeros, para un peso molecular total de la cápside vacía de 4.5×10^6 . En la matriz del Cuadro 1 puede verse que ninguna otra combinación molar genera la relación de masas observada. Esta sugerencia depende de que la relación de masas haya sido correctamente establecida, por lo que será importante corroborar dicha observación. Este modelo es congruente con la presunta antigenicidad de la p28, si suponemos que esta se asocia externamente a los hexámeros, favoreciendo

CUADRO 1

*Predicciones de relaciones de masa al cambiar varias proporciones molares de las proteínas (p22)/(p.28)
La primera columna vertical de la izquierda predice la relación de masas para un cápside con 180 copias
de la p22 y un número variable de copias de la p28. Las otras relaciones indicadas
incluyen valores en que la suma de las dos proteínas es de 180.*

	p22(180)	(175)	(170)	(168)	(160)	(150)	(140)	(130)	(120)
p28									
(1)	141.0	137.5	133.6	132.0	126.7	117.8	110.0	102.1	94.3
(5)	28.2	27.5	26.7	26.4	25.1	23.6	22.0	20.4	18.8
(6)	23.6	22.9	22.3	22.0	20.9	19.6	18.3	17.0	15.7
(10)	14.1	13.8	13.4	13.2	12.6	11.8	11.0	10.2	9.4
(12)	11.7	11.4	11.1	10.9	10.4	9.8	9.1	8.5	7.8
(20)	7.0	6.9	6.7	6.6	6.2	5.9	5.5	5.1	4.7
(30)	4.7	4.6	4.5	4.4	4.2	3.9	3.6	3.4	3.1
(40)	3.5	3.4	3.4	3.3	3.1	2.9	2.8	2.6	2.4
(50)	2.8	2.7	2.6	2.6	2.5	2.4	2.2	2.0	1.9
(60)	2.4	2.3	2.2	2.2	2.1	2.0	1.8	1.7	1.6

su presentación al sistema inmune. Diferentes tipos de estudios combinando técnicas inmunológicas y ultraestructurales, con anticuerpos específicos contra cada proteína, permitirán evaluar este modelo hipotético de la organización protéica del VRFM.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración de los compañeros del CIBCM, especialmente de Carmen Rivera, Reinaldo Pereira, Oscar Chavarría y Ana Mercedes Espinoza. Parte de esta investigación ha sido hecha con fondos de la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad de Costa Rica. Uno de los autores (P.L.) es investigador del CONICIT.

REFERENCIAS

- Ancalmo, O. & W. C. Davis. 1961. Achaparramiento, (corn stunt). Plant. Dis. Repr. 45: 281.
- Gámez, R. 1969. A new leafhopper-borne virus of corn in Central America. Plant. Dis. Repr. 53: 929-932.
- Gamez, R. 1969. A new leafhopper-borne virus of maize (*Zea mays*) by *Dalbulus maidis*. Ann. Appl. Biol. 73: 285-292.
- Gámez, R. 1980. Maize rayado fino virus. Descriptions of Plant Viruses, C.M.I./A.A.B. 220: 4 pp.
- Gámez, R., T. Fukuola & P. León. 1978. Properties and morphology of the leafhopper-borne maize rayado fino virus. In Abstracts of the Fourth International Congress for Virology, p. 28. Wageningen: Centre for Agricultural Publishing and Documentation.
- Gámez, R., E.W. Kitajima & M. T. Lin. 1979. The geographical distribution of maize rayado fino virus. Plant Dis. Repr. 63: 830-833.
- Gámez, R. & P. León. 1983. Maize rayado fino virus: evolution with plant host and insect vector. In Current Topics in Vector Research 1: 1149-168 (ed. K.F. Harris), Praeger Publ., N. York.
- Gámez, R. & P. León. 1985. Ecology and evolution of a Neotropical leafhopper-virus-maize association. In The Leafhoppers and Planthoppers 14: 170-182 (eds. L. R. Nault y J. Rodríguez), J. Wiley & Sons, Inc., N. York.
- Gingery, R.W., D. T. Gordon & L. R. Nault. 1982. Purification and properties of an isolate of maize rayado fino virus from the United States. Phytopathology 72: 1313-1318.
- León, P. & R. Gámez. 1981. Some physicochemical properties of maize rayado fino virus. J. Gen. Virol. 56: 67-75.
- Lockhart, B. E., M. T. Lin & E. W. Kitajima. 1984. A virus serologically related to maize rayado fino

in *Cynodon dactylon* at Morocco. *Fitopatología Brasileira* 9: 396.

Ramírez, P., J. A. Bonilla, E. Moreno & P. León
1983. Electrophoretic transfer of viral proteins
to nitrocellulose sheets and detection with pero-

xidase-bound lectins and protein A. *J. Immunological Methods* 62: 15-22.

Rivera, C., Y. Kozuka & R. Gámez (1981) Rayado
fino virus: detection in salivary glands and eviden-
ce of increase in virus titre in the leafhopper
vector *Dalbulus maidae*. *Turrialba* 31: 78-80.