

Identificación del virus del mosaico del maíz, un rhabdovirus, en Costa Rica

C. Rivera* y R. Pereira**

* Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular (CIBCM) y Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

** CIBCM.

Abstract: Maize mosaic virus (MMV), a rhabdovirus, was identified associated to maize field plants, showing stunting and continuous chlorotic stripes uniformly distributed over the leaf blade. The virus was detected in field samples by agar-gel immunodiffusion. Enveloped, bacilliform virus particles were observed by electron microscopy in thin sections of naturally infected leaf tissue.

Key words: maize mosaic virus, rhabdovirus, electron microscopy, serology.

La enfermedad causada por el virus del mosaico del maíz (MMV) fue originalmente descrita en Hawái (Kunkel, 1921), pero el agente causal de esta enfermedad fue identificado muchos años después en Venezuela (Herold et al., 1960). Actualmente es el rhabdovirus de gramíneas más ampliamente distribuido en el mundo (Francki *et al.*, 1981). Este virus se caracteriza por tener partículas baciliformes formadas por una nucleocápside que contiene ácido ribonucleico de hebra simple y de polaridad negativa, embebido en la proteína de la nucleocápside (N) y dos proteínas funcionales, una transcriptasa (L) y una proteína no estructural (NS). La nucleocápside está envuelta por una membrana externa formada por dos proteínas, una glicoproteína (G) y una proteína matriz (Peters, 1991). Las partículas tienen un tamaño aproximado de 234 a 247 nm de largo por 48 a 60 nm de ancho cuando se miden en cortes ultrafinos al microscopio electrónico (Herold, 1972). Este virus es transmitido por el saltahoja *Peregrinus maidis* (Ashm.) en forma persistente propagativa (Falk y Tsai, 1985) y puede infectar algunas otras especies de gramíneas las cuales actúan como reservorios del virus (Malaguti, 1963, Migliori y Lastra, 1981).

Este trabajo aporta evidencia de la presencia del virus del mosaico del maíz en Costa Rica.

MATERIAL Y METODOS

Muestras de plantas que presentaban en el campo enanismo, y bandas cloróticas continuas en la lámina foliar como se observa en la figura 1, fueron colectadas en Cañas, Guanacaste y en Parrita, Puntarenas, para su posterior análisis en el laboratorio.

Pequeñas piezas de las hojas de maíz sano de invernadero y de maíz sintomático colectadas en el campo se fijaron en una solución de caccodilato de sodio 0.05 M, pH 7.2 que contiene 2.5% de glutaraldehído y 2% de paraformaldehído (Karnovsky, 1965) y se posfijaron en tetraóxido de osmio al 1%. Posteriormente el material se pre-contrastó con una solución acuosa de acetato de uranilo al 0.5 %, se deshidrató en acetona y embebió en resina Spurr. Las secciones se hicieron en un ultramicrotomo equipado con cuchilla de diamante, se montaron en rejillas de cobre y se tificaron con acetato de uranilo y citrato de plomo (Reynolds, 1963). Los cortes se observaron en un microscopio electrónico Hitachi H 7100.



Fig. 1. Síntomas del virus del mosaico del maíz en el campo. Hojas que muestran en detalle las bandas cloróticas continuas.

Muestras de hojas de plantas de maíz sano de invernadero y de maíz sintomático colectadas en el campo fueron maceradas a una dilución de 1:2, peso:volumen, en un tampón de fosfato de potasio 0.01 M, pH 7.4 que contenía NaCl 0.14 M, azida de sodio al 0.02 % (PBS) y Tween 20 al 0.05 %. Después de maceradas, las muestras fueron sometidas a una inmunodifusión doble en geles de agar utilizando antisuero anti-MMV a una dilución de 1:10 volumen:volumen. El antisuero utilizado fue gentilmente donado por el Dr Donald Gordon (OARDC, Wooster, Ohio). El agar se preparó a una concentración del 0.5 % en PBS que contenía ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). Los geles fueron incubados durante toda la noche a temperatura ambiente y las bandas de precipitación observadas en un transluminador.

RESULTADOS

En todas las secciones ultrafinas, preparadas a partir de hojas de maíz sintomático colectado en el campo, se observaron al microscopio electrónico agregados de gran número de partículas virales baciliformes (V). Los agregados

de partículas (V) se observaron principalmente en el citoplasma de células epidérmicas y del mesófilo (Fig. 2 A), dentro de cavidades membranosas del retículo endoplásmico (Cm) (Fig. 2 B).

En la figura 3 A se observa una sección longitudinal en la que la mayoría de las partículas aparecen baciliformes dentro de una cisterna del retículo endoplasmático y miden 247 nm de largo aproximadamente. En el margen superior derecho de la figura 3 A se presenta una ampliación de las partículas en sección longitudinal donde se observa la envoltura externa (E) y la nucleoproteína interna en forma helicoidal (Np). En sección transversal las partículas virales aparecen redondas con un diámetro de 49 x 43 nm diámetro y se puede observar también la doble membrana que las envuelve (E) y la nucleoproteína (Np) internamente (E) (Fig. 3 B).

Todas las muestras provenientes de plantas sintomáticas de campo, fueron positivas por inmunodifusión en geles de agar, cuando se uso antisuero anti-MMV. Los controles sanos de maíz de invernadero no reaccionaron en presencia del antisuero.

DISCUSION

El tipo de partículas virales observadas al microscopio electrónico en cortes ultrafinos de maíz en este trabajo, permiten concluir que el virus encontrado pertenece al grupo de los rhabdovirus, y las pruebas serológicas identificarlo como el virus del mosaico del maíz. La observación al microscopio electrónico de partículas baciliformes con envoltura, y de un tamaño que varía de 180-380 nm de largo por 45-94 nm de diámetro en secciones ultrafinas de tejidos vegetales, es suficiente criterio para la identificación de un virus como miembro de este grupo (Francki et al., 1981). La utilización de antisueros específicos a su vez permite identificar con certeza aquellos miembros dentro del grupo que son antigénicamente diferentes.

Es importante destacar que aunque la incidencia de esta enfermedad es aún muy baja en el país y por lo tanto no es considerada como una enfermedad importante, constituye una amenaza para el cultivo del maíz, ya que en el país ha sido encontrado su vector *Peregrinus maidis* (Ashm) y existen algunas otras gramí-

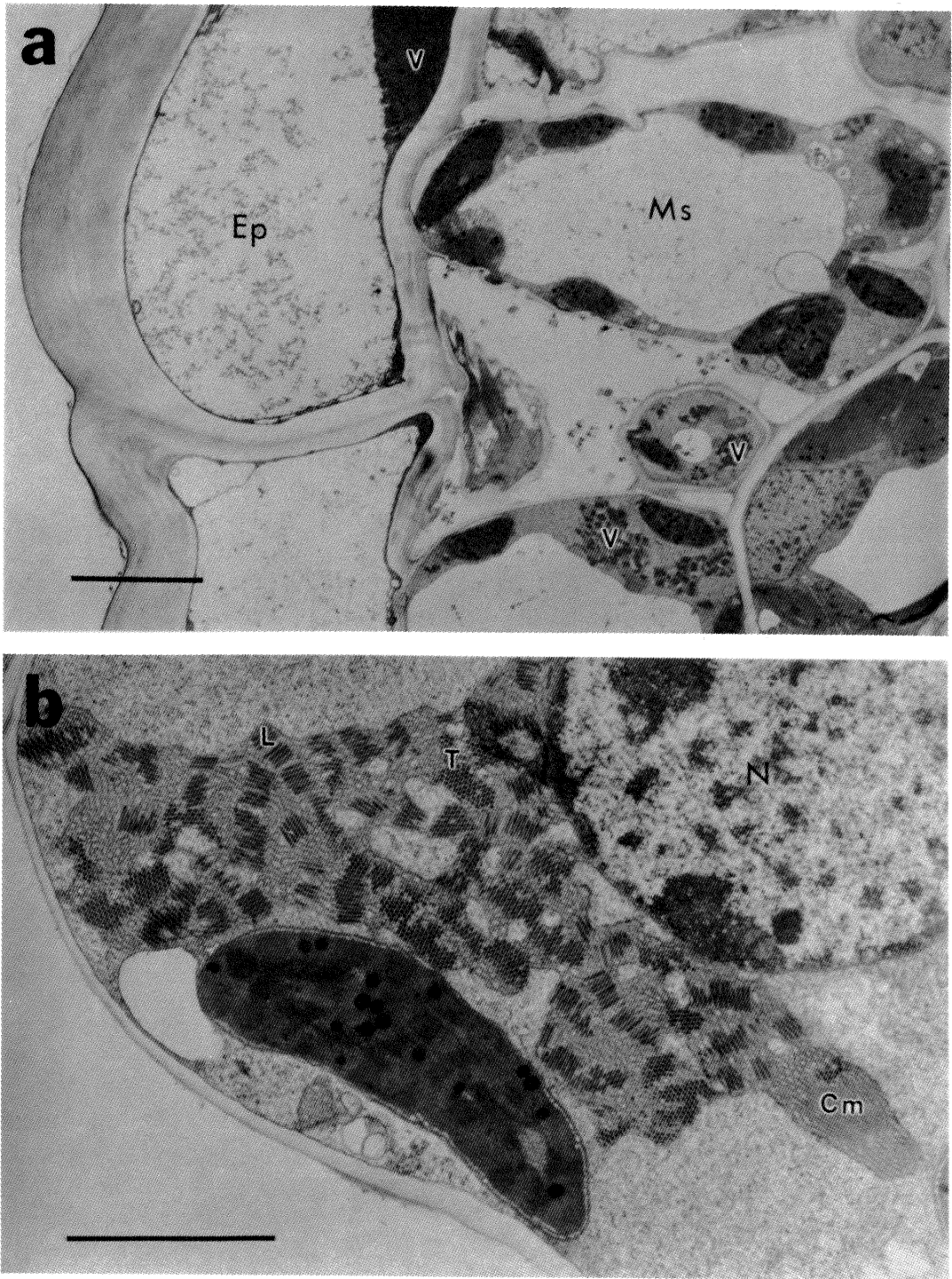


Fig. 2. Microscopia electrónica de cortes ultrafinos de hojas de maíz de plantas sintomáticas colectadas en el campo. A- Células epidérmicas (Ep) y del mesófilo (Ms) mostrando agregados de partículas virales (V) en el citoplasma, barra=5 μ m B- Cisternas membranosas (Cm) del retículo endoplasmático conteniendo agregados de partículas virales, en sección transversal (T) y longitudinal (L). (N=núcleo), barra = 2 μ m.

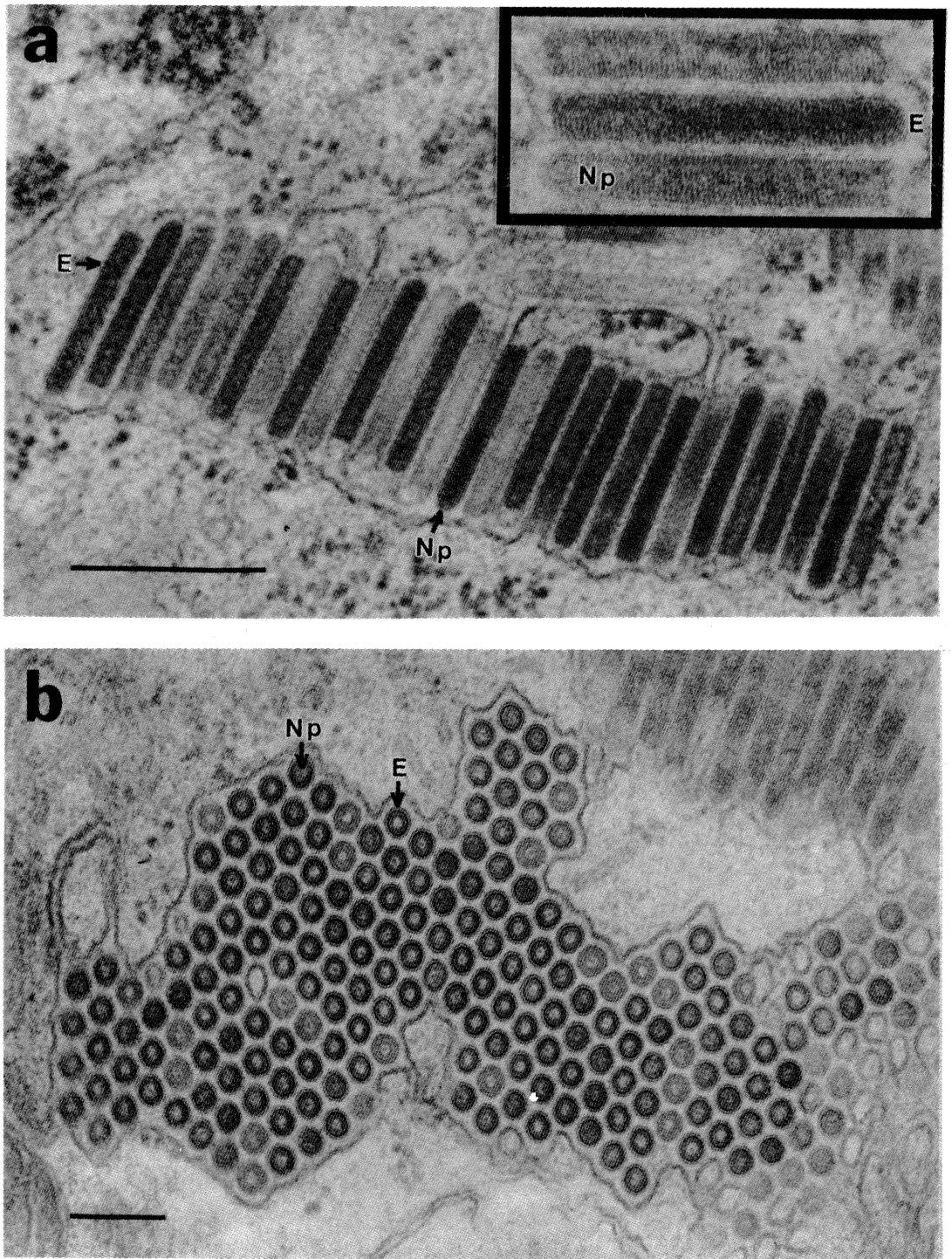


Fig. 3. A-Vista ampliada de las partículas virales (V) en sección longitudinal en la que se observa la estructura helicoidal de la nucleoproteína (Np) y la envoltura viral (E), barra= 300 nm. B- Vista ampliada de las partículas virales en sección transversal mostrando la nucleoproteína central (Np) y la envoltura viral (E), barra= 150 nm

neas que pueden actuar como reservorio del virus (Rivera, C., datos no publicados).

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por el Programa de Caracterización y Diagnóstico de Virus y Viroides en Cultivos de Importancia Económica del Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular de la Universidad de Costa Rica (PCDV-CIBCM-UCR).

RESUMEN

El rhabdovirus conocido como virus del mosaico del maíz fue identificado asociado a plantas de maíz que presentaban en el campo, enanismo y bandas cloróticas continuas, uniformemente distribuidas en la lámina foliar. En cortes ultrafinos de tejido foliar de estas plantas se observaron por microscopía electrónica partículas virales baciliformes con envoltura, de diferentes tamaños dependiendo de su grado de desarrollo. Por el método serológico de inmunodifusión doble en agar, se identificó este virus como el virus del mosaico del maíz.

REFERENCIAS

- Falk, B. W. & Tsai, J. H. 1985. Serological detection and evidence for multiplication of maize mosaic virus in the planthopper, *Peregrinus maidis*. *Phytopathology* 75:852-855.
- Herold, F. 1972. Maize mosaic virus, CMI-AAB Descriptions of Plant Viruses, No 94.
- Herold, F., Bergold, B. H. & Weibel, J. 1960. Isolation and electron microscopy demonstration of a virus infecting corn (*Zea mays* L.). *Virology* 12:335-347.
- Karnovsky, M. J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 27:137.
- Kunkel, L. 1921. A possible causative agent for the mosaic disease of corn. *Hawaii Sugar Plant Ass. Exp. Stn. Bull. Bot. Serv.* 3:44-58.
- Malaguti, G. 1963. El enanismo rayado del maíz en Venezuela. *Agronomia Tropical* 12:175-193.
- Migliori, A. & Lastra, R. 1981. Mice en evidence du maïze mosaic virus chez le maïs en Guadeloupe et en Guyane. *Agronomie* 1:195-198.
- Peters, D. 1991. Divergent evolution of Rhabdoviridae and Bunyaviridae in plant and animals. *Seminars in Virology* 2: 27-37.
- Reynolds, E. S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 17:208-212.
- Francki, R. I. B., Kitajima, E. W. & Peters, D. 1981. Rhabdovirus. In *Handbook of Plant Virus Infections and Comparative Diagnosis*. E. Kurstak (ed.). Elsevier-North-Holland Biomedical Press. Pag 456-486.