

LOS MICOVIRUS: PARTÍCULAS EXTRACROMOSÓMICAS DE LOS HONGOS. UN ENFOQUE NOVEDOSO DENTRO DE LA MICOLOGÍA

por Teresa Mier¹

MYCOVIRUSES: EXTRACHROMOSOMAL PARTICLES OF THE FUNGI. A NOVEL APPROACH IN MYCOLOGY

ABSTRACT

Mycoviruses or virus-like particles (VLPs) are cytoplasmic factors, spherical or isometric virus-like nucleoprotein particles, which contain double stranded ribonucleic acid (dsRNA) and exhibit diameters ranging from 25 to 40 nm. Most fungal viruses possess genomes composed of one to three segments of dsRNA that are separately encapsidated in isometric particles. The VLPs are serologically and electrophoretically heterogeneous, replicate by duplication and in parallel with the host RNA, DNA and protein synthesis mediated by an associated RNA polymerase activity. It has been demonstrated that they are potent inducers of interferon in animals. Viral infection occurs widely in anamorphic fungi, but with few exceptions does the host-parasite interaction culminate in an altered phenotype of the fungus. Nevertheless, "France disease", the most serious infectious disorder of the common cultivated mushroom and the virulence attenuation of the chestnut blight fungus are mediated by mycoviruses and the fungal strain harboring virus exhibits a diverse array of characteristics, termed hypovirulence-associated traits, which distinguish it from an isogenic virus-free strain. At present, limited evidences are available on the direct influence of viruses on fungal host metabolism and their biological significance. Mycoviruses are latent in fungi cells, probably as a result of gradual coevolution process. Their viral nature can be judged only by their biophysical characteristics since they do not present the typical virulence of true viruses.

KEY WORDS: Killer factor; fungi; mycovirus; virus-like particles.

RESUMEN

Los micovirus son elementos extracromosómicos nucleoprotéicos similares a los virus, con ácido ribonucleico de doble cadena (ARNdc), diámetro entre 25 a 40 nm y heterogéneos electroforética e inmunológicamente. Se replican paralelamente al hongo, duplicándose mediante una polimerasa de ARN. En deuteromycetes la infección por micovirus no se ha asociado, generalmente, a alteraciones

¹ Departamento El Hombre y su Ambiente, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Calzada del Hueso 1100, C.P. 04960, México, D.F.
Recibido: 25 de mayo, 1994. Aceptado: 30 de agosto, 1994.

fenotípicas específicas. Pero en ciertos hongos perfectos, su presencia está relacionada a ciertas enfermedades degenerativas, la síntesis de una toxina proteica en cepas denominadas "killer" y la atenuación de la virulencia de algunos fitopatógenos. Son potentes inductores de interferón en mamíferos. Sin embargo, aún hay pocas evidencias sobre su influencia en el metabolismo y biología de los hongos. Permanecen, intracelularmente, en estado latente. Dado que carecen de las propiedades de virulencia y transmisibilidad características de los virus verdaderos, su naturaleza viral se ha establecido principalmente con base en sus características biofísicas.

PALABRAS CLAVE: Factor killer; hongos; micovirus; partículas similares a virus.

INTRODUCCIÓN

Los primeros indicios acerca de la existencia de los micovirus en los hongos microscópicos deuteromicetes surgieron a través de investigaciones sobre el comportamiento de extractos obtenidos de cultivos en medios líquidos de *Penicillium funiculosum* y *P. stoloniferum*. Dichos extractos interferían, de alguna forma aún desconocida en aquel momento, con el efecto patogénico de un virus de la influenza inoculado experimentalmente en ratones (Shope, 1953, 1966). De estas observaciones, el autor propuso la existencia de dos "substancias protectoras", las cuales denominó *estaton* y *helenina*. Además, sugirió, prematuramente, que la actividad antiviral de los extractos podría derivarse de la capacidad de ambos para inducir la producción de interferón en los ratones infectados por el mixovirus de la influenza.

Estas primeras sospechas de inducción de interferón asociada a hongos filamentosos llamaron grandemente la atención de algunos investigadores. Lo anterior motivó que se comenzara a trabajar en el análisis de la naturaleza del principio activo de la *helenina*, referida en ese entonces como una materia aún en discusión, ya que todavía no había sido obtenida en forma lo suficientemente pura que permitiera una identificación definitiva (Lampson *et al.*, 1967).

Así, Ellis y Kleinschmidt (1967), motivados por los hallazgos de Shope, presentaron la primera evidencia de la existencia de los micovirus o partículas similares a virus (PSV), en cultivos de *P. stoloniferum* inductores de interferón. Un año más tarde, Banks *et al.* (1968), encontraron que esas PSV contenían ácido ribonucleico de doble cadena (ARNdc). Los trabajos de estos autores confirmaron las sospechas anticipadas por Shope. Pero, su principal aporte consistió en demostrar, que tanto el virus intacto como su contenido en ARNdc, después de haber sido extraído y purificado, eran los responsables directos de desencadenar los mecanismos de síntesis de interferón en los ratones expuestos al virus de la influenza (Banks *et al.*, 1969).

En levaduras, la existencia de estas partículas virales fue descubierta por Lindergreen *et al.* (1962). Border (1972), también presentó pruebas sobre la presencia de PSV en *Saccharomyces cerevisiae* y más tarde Buck *et al.* (1973), lograron purificarlas en gradientes de densidad de sacarosa, demostrando a la vez que sus ácidos nucleicos consistían en ARNdc. En ese mismo año, Nesterova *et al.* (1973), observaron PSV al microscopio

electrónico en cepas termosensibles de *Candida tropicalis* y Kozlova (1973), demostró la existencia del mismo tipo de partículas en especies pertenecientes a los géneros *Candida*, *Rhodotorula* y *Saccharomyces*.

La primera evidencia en macromycetes fue presentada por Hollings (1962), al demostrar que la causa de la enfermedad degenerativa de *Agaricus bisporus*, hongo muy popular en gastronomía conocido como "champiñón", era motivada por unas partículas nucleoproteínicas encontradas en el citoplasma de las células fúngicas. Actualmente, ha sido demostrada de manera convincente la etiología viral de este padecimiento, conocido como "enfermedad de Francia" y considerado como uno de los desórdenes infecciosos más serios entre estos hongos cultivados para uso comercial (Romaine y Schlagnhauser, 1989).

En la actualidad, el estudio de los micovirus continúa siendo un área del conocimiento, dentro de la Micología y la Microbiología, relativamente poco explorada y divulgada, especialmente en México y Latinoamérica. A pesar de ello, los micovirus están ampliamente distribuidos en el Reino Fungi y como puede observarse en la tabla 1 han sido descritos en hongos contaminantes, comestibles y fitopatógenos (Lemke, 1976, 1981). A la luz de las investigaciones en este campo se infiere que su presencia, aparentemente, puede repercutir, tanto en la virulencia de los hongos patógenos del hombre, animales y plantas así como en el desarrollo de aquellos que tienen importancia económica, por su capacidad para comportarse como patógenos potenciales del hongo en el cual se hospedan. Tal es el caso de las cepas virogénicas de *Helminthosporium maydis*, agente etiológico de una severa enfermedad en el maíz (Mier, 1979). Además de su gran importancia como agentes inductores de interferón (Banks *et al.*, 1969; Duzhak, *et al.*, 1985; Buck *et al.*, 1971), los micovirus intervienen en la regulación de la expresión genética de los hongos durante los períodos de latencia y fases permisivas (Lemke y Ness, 1970; Kazama y Schornstein, 1972; Still *et al.*, 1975), demostrándose más recientemente que intervienen en mecanismos de retrotransposición y en la traducción a nivel ribosomal (Wickner *et al.*, 1991; Boeke y Chapman, 1991; Tzeng *et al.*, 1992), y constituyen los "factores matadores" (factor "killer") descritos en *Saccharomyces cerevisiae* (Adler *et al.*, 1976; Bevan *et al.*, 1973; Buck *et al.*, 1973; Herring y Bevan, 1974) y en *Ustilago maydis* (Koltin, 1977; Koltin y Day, 1976; Lindergren *et al.*, 1962). De acuerdo a los estudios de Bozarth (1972), los micovirus podrían además, influir en el crecimiento y dimorfismo de los hongos, así como en la producción de enzimas y toxinas. Su estudio también resulta de gran interés para el área de la Virología básica debido a que estas partículas similares a virus de ARNdc tienen un comportamiento muy diferente al que presentan los otros ribovirus de doble hélice, especialmente en lo que respecta a su replicación (Bozarth, 1977; Buck y Girvan, 1977; Buck y Kempson-Jones, 1973; Ratti y Buck, 1972; Velikodvroskaia, 1974; Wood *et al.*, 1971).

Aunque los micovirus tienen características virales fundamentales, a su vez, presentan peculiaridades que los distinguen o hacen diferentes de los virus de plantas y animales. Hay investigadores, como Banks *et al.* (1968), que desde un principio consideraron justificado el asignar a estos agentes citoplasmáticos la denominación de virus. Lo anterior, debido a

que poseen, a excepción de la infectividad, propiedades virales como son sus peculiaridades estructurales y tintoriales al microscopio electrónico, simetría, constitución bioquímica, patrones de sedimentación similares a la de los pequeños virus icosaédricos, reacciones serológicas específicas así como eliminación o cura por calor, (Fink y Styles, 1972). La presencia de una actividad de polimerasa de ácido ribonucleico dependiente de ácido ribonucleico (ARNpol-ARNdep), ha sido considerada por Wood *et al.* (1971), como una confirmación más sobre la naturaleza viral de estos elementos extracromosómicos. Por todo lo anteriormente expuesto, Bozarth (1972), los ha considerado como "una nueva dimensión de la Microbiología", estimándose que se necesitarían nuevos postulados acerca de la naturaleza de los micovirus o PSV para ubicarlos como virus verdaderos o como plásmidos que comparten determinadas características, que tradicionalmente han sido asignadas exclusivamente a los virus (Lemke, 1976; Sanderlain y Ghabrial, 1978). También, hay opiniones autorizadas que consideran que podrían ser referidas como virus verdaderos únicamente aquellas partículas nucleoproteínicas, libres o independientes, que fueran capaces de infectar e implantarse por sí mismas en la célula hospedante.

Los programas de búsqueda de micovirus se basan en métodos de concentración y purificación parcial de extractos obtenidos de hongos y examinados al microscopio electrónico. Es necesario hacer resaltar que la mayor dificultad se atribuye a la ausencia de pruebas sencillas de infectividad, de uso común en la identificación de los virus animales. Como resultado de esta situación, se ha propuesto la utilización de antisueros específicos contra ARNdc viral para descubrir su presencia en los hongos sin que sea imprescindible recurrir a la microscopía electrónica (Polonelli y Morace, 1988). La introducción de otras técnicas para revelar la presencia de ARNdc viral, por ejemplo, las pruebas de hibridación con ADN, podrían tener aplicaciones prácticas en un futuro inmediato, especialmente para la selección de cepas resistentes al complejo viral que ataca a *Agaricus bisporus* (Sonnenberg y Griensven, 1987).

ESTRUCTURA Y PROPIEDADES BIOFÍSICAS

Los estudios de las propiedades biofísicas de los virus de hongos los describen como sistemas multicomponentes de partículas nucleoproteínicas, en general poliédricas y factibles de ser separadas en gradientes de densidad de sacarosa de acuerdo a su coeficiente de sedimentación. Su diámetro fluctúan entre 25 a 40 nm, su tipo de ARN es de doble cadena, su peso molecular promedio es de 2.0×10^6 daltones (Bozarth, 1977; Koltin, 1977; Ratti y Buck, 1972; Sanderlin y Ghabrial, 1978), excluyendo al ARNdc de *H. maydis* que alcanza un valor de 6.3×10^6 daltones. También se han encontrado partículas con pequeñas cantidades de ARN de cadena sencilla, cápsides vacías así como moléculas de ARNdc libres. Cabe destacar que fue en *P. stoloniferum* donde se reportó, por primera vez en hongos, un ARN de cadena sencilla. Cada tipo de partícula puede tener componentes de ARN de doble cadena en diferentes proporciones según su peso molecular promedio. En *Aspergillus foetidus*

(Buck y Ratti, 1975b, 1977) y *P. stoloniferum* (Buck, 1975; Buck y Kempson-Jones, 1973) pueden presentarse PSV que contienen ácido ribonucleico de doble hélice o de filamento sencillo. Sin embargo, también existen cepas que presentan al mismo tiempo los dos tipos de partículas, esto es, con ARN de cadena doble y sencilla respectivamente. Estas partículas forman un complejo viral integrado por virus diferentes serológica y electroforéticamente. Es posible que en el origen filogenético y en las adaptaciones evolutivas de los micovirus se encuentre la respuesta que explique el hecho de que, en general, no haya homogeneidad entre los virus que infectan a los diferentes especímenes fúngicos. Como excepción a la regla podemos mencionar los virus de *P. chrysogenum* y *P. cyaneo-fulvum*, que manifiestan relaciones inmunológicas entre sí.

Como se ha mencionado, los micovirus son esféricos o poliédricos generalmente (Buck y Girvan, 1977; Buck y Ratti, 1975b; Velikodvroskaia, 1974), pero hay algunos cuya morfología se asemeja a la de los bacteriófagos (Tikhonenko *et al.*, 1974; Volkoff y Walters, 1970) o a la de los herpesvirus (Kazama y Schornstein, 1973). En *Plasmopara halstedii* se han descrito virus cuya superficie posee proyecciones de aproximadamente 4 nm (Mayhew *et al.*, 1992). En *Peziza ostracoderma* y en *Entomophaga aulicae* se presentan como arreglos paracrystalinos de estructuras longitudinales (Finch, 1970; Nolan *et al.*, 1988) y también se han observado en forma de bastones (Hollings, 1962).

En *Basidiobolus haptosporus* y *B. ranarum*, hongos pertenecientes al grupo taxonómico de los phycomycotina, ha sido revelada la presencia de inclusiones citoplasmáticas cuya morfología concuerda con la que ha sido descrita para las PSV encontradas en otros hongos (Garrison y Fiskin, 1986). También en el citoplasma y núcleos de *Entomophaga aulicea*, ficomicete de importancia para el control biológico de plagas, han sido observados agregados compuestos por cientos de partículas virales en forma de bastoncillos de 20 nm de diámetro (Murrin *et al.*, 1987; Nolan *et al.*, 1988). También en el citoplasma de las hifas de *Leucostoma personii* se han descrito partículas virales contenidas en agregados rodeados por una membrana (Snyder *et al.*, 1989).

En el basidiomicete *Agrocybe aegerita*, han sido descubiertos fragmentos de genoma viral consistentes en ARNdc no encapsidado. Hay autores que estiman que estos fragmentos pudieron haber evolucionado paralelamente a la célula hospedante y llegar a constituir elementos genéticos replicativos (plásmidos de ARNdc) con función aún desconocida (Barroso y Labarere, 1990).

A pesar de que los micovirus se catalogan como virus de ARN de doble cadena (Ushiyama, 1986; Chen y Liang, 1988; Dickinson y Pryor, 1989; Zelikovitch *et al.*, 1990; Klassen *et al.*, 1991; Newhouse y MacDonald, 1991; Rytter *et al.*, 1991; Newhouse *et al.*, 1992) no se descarta la presencia de ácido desoxirribonucleico (ADN) en los virus fúngicos. En cultivos puros de *P. brevi-compactum*, *P. chrysogenum* y *P. stoloniferum* se han encontrado virus similares morfológicamente a los fagos lambda de *Escherichia coli*, cuyo ADN ha sido caracterizado por pruebas de reacciones de color, desnaturalización térmica y densidad de flotación. La afirmación acerca de que el ADN procedía de los micovirus y que

no era inducido por sustancias fúngicas en bacterias lisogénicas, ni provenía de bacterias contaminantes se basó en los argumentos siguientes: al cultivar los hongos en presencia de neomicina no se afectó el título viral con respecto a los testigos, su infectividad hacia las bacterias creció con el desarrollo del hongo, fracciones definidas de micelio, —después de ser sometidas a gradientes de sulfato de cesio—, produjeron placas diferentes en tamaño y morfología en una misma bacteria y los antisueros contra los virus aislados de las tres especies de *Penicillium* neutralizaron la infectividad de las fracciones fúngicas hacia las bacterias (Tikchonenko *et al.*, 1974). Por otro lado, Kazama y Shornstein (1972) también han presentado evidencias de la presencia de un virus de ADN en un ficomicete. Tikchonenko *et al.* (1974), han encontrado virus de ADN, muy similares a los bacteriófagos Lambda de *Echerichia coli*, en cepas de *P. brevi-compactum*, *P. chrysogenum* y *P. stoloniferum*.

En la tabla 2 se resumen algunas de las características biofísicas más relevantes o representativas de las PSV de ARN más estudiadas.

REPLICACIÓN Y SOBREVIVENCIA DE LAS CÉLULAS FÚNGICAS

La replicación de los virus animales, de plantas o de bacterias se logra a través de los ciclos lítico y lisogénico. Sin embargo, la replicación de los micovirus contrasta notablemente con este esquema, en los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* así como en levaduras se ha descubierto la existencia de una ARN polimerasa que interviene en forma preponderante en los procesos de replicación viral (Wood, 1973). La principal diferencia está dada por el hecho de que los micovirus se replican paralelamente a la célula hospedante y solamente bajo condiciones especiales son liberados de las células transmitiéndose de una generación a otra por procesos de conidiogénesis o por heterocariosis (Detroy y Still, 1975; Banks *et al.*, 1968; DeMarini *et al.*, 1977; Lhoas, 1971).

Buck y Ratti (1975a), han propuesto un modelo muy interesante donde se explica que la replicación se lleva a cabo a través de un proceso de duplicación donde interviene una polimerasa de ARN dependiente de ARN (ARNpol-ARNdep) que actúa como transcriptasa (Ratti y Buck, 1979; Wickner *et al.*, 1991; Tzeng *et al.*, 1992) y de acuerdo a lo demostrado por Detroy *et al.* (1978), y por Detroy y Still (1975), dicha replicación se realiza paralelamente a la reproducción de la célula hospedante. Sin embargo, para postular que la replicación más bien se asemeja de la de los reovirus, hay otras teorías que se basan en la capacidad de los micovirus para sintetizar ARN de cadena sencilla, considerando en ello la participación de una actividad de transcriptasa inversa asociada a las partículas virales (Hansen *et al.*, 1992).

Por lo general, los micovirus permanecen en estado latente en las células que infectan (Nesterova *et al.*, 1973; Lemke, 1976; Kazama y Schornstein, 1972), intercambiándose citoplasmáticamente (Lhoas, 1971 y Nesterova *et al.*, 1974) o por procesos de conidiogénesis; con esta forma de transmisión mantienen la infección de una generación a otra (DeMarini *et al.*, 1977). También ha sido descrito un ciclo lítico de replicación viral, cuya expresión

puede estar sujeta a varios factores endógenos y exógenos que provocan la subsecuente lisis de la célula fúngica (Lemke, 1973, 1976, 1981; Nesterova *et al.*, 1973; Borré *et al.*, 1971).

Existen factores derivados del hospedante, por ejemplo la síntesis de metabolitos secundarios como la patulina y el ácido micofenólico, que al parecer pueden intervenir en la replicación del los micovirus de *P. brevi-compactum* y *P. stoloniferum* (Detroy y Still, 1975).

Se han descrito factores exógenos, como la relación carbono/nitrógeno, que pueden intervenir en la replicación; dado que ha llegado a apreciarse que una fuente limitante de energía no sólo abate la proliferación del hongo sino también la del virus.

Detroy *et al.* (1978), han presentado evidencias acerca de la estrecha relación entre el hospedante y la replicación viral al demostrar que ésta es proporcional al incremento de la biomasa fúngica. Además, se ha observado que la replicación se lleva a cabo durante el crecimiento primario vegetativo del hongo, continuando, a expensas de sus materiales de reserva, durante la fase estacionaria de crecimiento (Still *et al.*, 1975).

Se ha propuesto que el término de virus debería ser utilizado con ciertas reservas debido a que no se han podido lograr pruebas de infectividad a partir de partículas virales infectivas libres o independientes. La infección experimental en hongos sólo ha sido posible a través de intercambio citoplasmático entre cepas portadoras de micovirus las cuales pueden transferir las partículas virales a cepas receptoras de la misma especie y ocasionalmente, a especies diferentes (Lhoas, 1971 y Nesterova *et al.*, 1974).

Estos sistemas hongo-micovirus parecen ideales para estudiar la interacción huésped-parásito en células de eucariotes, por ser accesibles a manipulaciones genéticas y al aislamiento de productos involucrados con la replicación de los virus en la célula (Still *et al.*, 1975). Estos ciclos de replicación por duplicación ocurren de manera muy particular en los micovirus quizás a consecuencia de que no requieren una fase extracelular durante su ciclo de vida. Lo anterior, debido a que permanecen en el interior de las células portadoras transmitiéndose de una generación a otra sin ningún efecto aparente para la mayoría de las células que los hospedan.

OTROS ASPECTOS DE INTERÉS BIOLÓGICO EN LOS MICOVIRUS:

Especificidad: Entre los oomicetes y los virus que los infectan se ha observado una relación huésped-parásito altamente específica (Mayhew *et al.*, 1992; Newhouse *et al.*, 1992).

Sin embargo, después de haber infectado cepas compatibles de *Saccharomyces cerevisiae* con virus de ARNdc obtenido de *Aspergillus niger* y *Penicillium stoloniferum* ha sido motivo de discusión los aspectos referentes a la ubicuidad o inespecificidad de los micovirus (Border, 1972). Aunque es adecuado resaltar que este interesante fenómeno no es exclusivo de los micovirus, ya que también ha podido ser reproducido con los virus del mosaico del tabaco y del polioma después de haber sido implantados experimentalmente en levaduras intactas y en sus protoplastos respectivamente. Si consideramos, de manera

general, que una de las características fundamentales de los virus es su alta especificidad hacia las células que parasitan, entonces podría pensarse que *Saccharomyces* constituya un hospedante común a virus de diferentes orígenes filogenéticos.

A la vez, los resultados experimentales sobre la presencia de un agente supuestamente viral que inhibe el crecimiento y provoca la destrucción de *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium gypseum* y *T. rubrum*, pero que a la vez es inocuo para *Phialophora pedrosoi*, *Penicillium* sp. o *Aspergillus* sp. apoyan, al menos en estas especies, la idea de que la afinidad o especificidad de los micovirus podría estar regida por relaciones filogenéticas. Asimismo, en el hongo *Traustochytrium* sp. se ha demostrado la presencia de un virus cuyas características coinciden con las de los herpes-virus y lógicamente, la descripción de este tipo de virus en un organismo diferente a un vertebrado ha resultado muy motivante, especialmente para aquellos interesados en estudios sobre evolución (Kazama y Schornstein, 1972).

Lisis celular y estados de latencia: La presencia de placas líticas como resultado de la infección viral no es común, a pesar de la amplia distribución de los micovirus entre los hongos. Hay que resaltar que no se han hecho suficientes estudios dirigidos a dilucidar la correlación que pudiera existir entre la lisis celular y la presencia de los micovirus. Además, es necesario tomar en consideración que estos elementos virales se encuentran en las células hospedantes generalmente en estado de latencia y replicándose paralelamente con el hospedante sin ocasionar alteraciones aparentes que distingan a los cultivos portadores (Lemke, 1976).

En *P. citrinum* y *P. variable* se han encontrado áreas de micelio blanco y suave en cuyo reverso se distinguieron placas líticas a través del fondo de la caja de Petri. El micelio ubicado en el centro de las placas estaba constituido por hifas distendidas, con escaso material citoplasmático y rico en partículas virales. A partir de inóculos tomados de esta porción del micelio, parcialmente lisado, se obtuvieron cultivos de aspecto macroscópico similar, que también eran portadores de muchas partículas virales (Borré *et al.*, 1971). A partir de estas observaciones parece razonable inferir que exista una correlación entre la presencia de los virus y la lisis celular. Además, los propios autores mencionan que una infección viral puede provocar ocasionalmente alteraciones morfológicas muy específicas. Otro aspecto interesante consiste en la demostración de que a partir de fragmentos miceliales, tomados del centro de las placas líticas se obtuvieron colonias levaduriformes, curiosamente, libres de partículas virales y cuya morfología revertía a la fase micelial a temperaturas de 30 ó 32° C. Esta situación podría ser el resultado de que en estas células el virus estuviera ligado a los cromosomas en forma temperada o de provirus, tal y como se había planteado anteriormente.

La regulación de la expresión del fenómeno lítico aparentemente está condicionado a factores exógenos y endógenos. Por ejemplo se ha encontrado que los medios de cultivo pobres en sustancias nutritivas parecen favorecer la replicación viral en *Traustochytrium* sp. (Kazama y Schornstein, 1972) y que el contenido en lactosa ha inducido tanto la síntesis viral como la formación de placas líticas en hongos pertenecientes al género *Penicillium*

(Borré *et al.*, 1971). Otros factores, como la temperatura y las condiciones de anaerobiosis también parecen influir en la lisis celular (Nesterova *et al.*, 1973; Lemke, 1976). Ciertas sustancias del medio ejercen un efecto inhibitorio sobre la formación de placas líticas, como el ácido micofenólico sintetizado por hongos del género *Penicillium*. Sin embargo, aunado a lo anterior, no debe descartarse el hecho de que la expresión de la lisis celular sea un fenómeno que puede estar regido básicamente por patrones genéticos inherentes a las diferentes especies.

Según Lemke (1973, 1976), la lisis está condicionada a tres factores fundamentales: a) presencia de una mutación en un *locus* cromosómico, b) existencia del virus de ARNdc en el citoplasma y c) crecimiento en medio con lactosa como fuente de carbono. La evidencia, tanto de la mutación cromosómica como de la presencia extracromosómica del virus, en la formación de las placas, fue obtenida a través de estudios genéticos sobre la transmisión de este virus a heterocariones. Dos heterocariones obtenidos a partir de cruza de tres cepas parentales (NRRL-1951, E-15 y E-15a) fueron analizados de acuerdo a técnicas de parasexualidad. Cada padre fue reconocido por un marcador de color en la espora y por un requerimiento nutricional o auxotrófico. Los heterocariones fueron formados por copropagación de los padres auxotróficos apareados en medio mínimo. Los heterocariones resultantes produjeron sus progenies de esporas, éstas fueron analizadas de acuerdo a su habilidad para formar placas y por su contenido en virus. La progenie resultante de un primer heterocarión formado entre la cepa silvestre NRRL1951 (no formadora de placas, con alelo dominante *A* y adaptada para mantener el virus en estado latente) y la cepa mutante E-15 (formadora de placas, con alelo recesivo *a*, con el virus en su citoplasma y obtenida a partir de la cepa silvestre), se segrega 1:1 con respecto a la formación de placas. Esto significa que el alelo formador de placas es recesivo, ya que su progenie diploide no forma placas líticas. Un segundo heterocarión se originó de una cruce entre las cepas E-15 (formadora de placas y con virus) y E-15a (no formadora de placas y sin virus), derivada de la E-15. Al propagarse en un medio con lactosa, toda la progenie resultante de este heterocarión formaba placas y contenía virus. Con estos resultados se demostró que la formación de placas depende de genes nucleares recesivos, *a*, del carácter extracromosómico de las partículas virales y del contenido de lactosa en el medio de cultivo. Para su mejor comprensión los eventos expuestos anteriormente se presentan en el diagrama descriptivo de la figura 1.

Influencia en la producción de metabolitos fúngicos: Los datos que aparecen en la literatura son muy limitados en relación al papel que pueden tener los micovirus en la producción de metabolitos secundarios como los antibióticos y micotoxinas. Lemke y Ness (1970) han sugerido que la presencia de virus en *P. chrysogenum* parece ligada a la biosíntesis de la penicilina, en cambio en *P. notatum* las cepas productoras del antibiótico carecen de tales partículas virales. Lo anterior lleva a pensar que la presencia de micovirus, al menos en esta especie, no es esencial para la producción del antibiótico.

Los progresos en este campo dependerán, en gran medida, de los avances que surjan en el desarrollo de la metodología general y técnicas de transmisión, infección y cuantificación de la PSV en el hospedante. También podrían correlacionarse ciertas características distintivas de las células parasitadas con la presencia de los virus. Tal es el caso de las cepas de *P. stoloniferum* portadoras de partículas virales cuyas paredes celulares contienen una cantidad muy elevada de glucosamina. Estas observaciones podrían sentar pautas para esbozar algunas hipótesis sobre la influencia de estos virus en el comportamiento fisiológico de los hongos y específicamente en la producción de metabolitos secundarios.

Producción de interferón: El interferón ha sido reconocido como parte de los mecanismos de defensa primarios de un individuo mediado por la inducción viral de la síntesis de proteínas celulares que a su vez interfieren con la replicación del virus (Kaplan *et al.*, 1988). Como fue mencionado anteriormente, Shope (1966) encontró que los extractos de *P. funiculosum* y *P. stoloniferum* ejercían una acción protectora en ratones inoculados experimentalmente con virus de la influenza. Esto sentó bases para que más tarde, se descubriera que el ARNdc contenido en las partículas virales que infectaban los hongos era el factor activo mediador de la síntesis de interferón y por consiguiente de la acción protectora en el hospedante animal (Lampson *et al.*, 1967; Banks *et al.*, 1968; Nosik *et al.*, 1984; Buck, 1988). Estos, así como otros trabajos posteriores permitieron catalogar a los micovirus por su capacidad para inducir la producción de interferón. La inducción puede llevarse a cabo por el virión intacto o por su ARNdc, destacando que su eficiencia es aún mayor después de haber sido purificado, con posterioridad a su extracción de la partícula viral.

Hay opiniones acerca de que el ARNdc extraído de los micovirus resulta realmente superior, como inductor de interferón, que aquél obtenido sintéticamente, cuyo peso molecular podría variar en cada producción. Además, también constituye una ventaja económica el hecho de que a partir de la producción de penicilina pueda recuperarse, colateralmente, ARNdc obtenido de las hifas del hongo durante el proceso de fermentación industrial.

El fenómeno killer y los virus de hongos: La existencia de levaduras capaces de matar a otras cepas de la misma especie parece ser un fenómeno muy difundido en la naturaleza (Lindergren *et al.*, 1962; Duzhak *et al.*, 1985; Moriya *et al.*, 1989). Actualmente se sabe que esta propiedad, conocida como factor "killer" se debe a la presencia de un elemento de herencia no-mendeliana. Las cepas que lo poseen, denominadas "killer", sintetizan una toxina glicoproteínica capaz de matar cepas sensibles, incapacitadas para producir esta substancia, y a la cual las células productoras son inmunes. Las cepas con fenotipo "killer" (K) matan a las de fenotipo sensible (S), son inmunes a la toxina y en las cruces con las sensibles, tanto la segregación del factor "killer" como la resistencia a la toxina no sigue un patrón de herencia mendeliana. Las cepas neutrales (N), no producen la toxina y no son inhibidas por las "killer". Otra evidencia de que el factor "killer" es un determinante

citoplasmático es el hecho de que la cicloheximida y las temperaturas de 30 y 40° C convierte las cepas "killer" de *Saccharomyces cerevisiae* en sensibles (Fink y Styles, 1972).

La habilidad "killer" puede hacerse evidente a través de réplicas de colonias sobre un "césped" de levaduras de la misma especie en un medio de cultivo conteniendo azul de metileno a una temperatura de incubación de 25° C, las colonias "killer" se rodean de un halo claro azul por la presencia de las células muertas derivadas de las cepas sensibles.

En extractos libres de células obtenidos a partir de *S. cerevisiae* se han encontrado partículas similares a virus de 40 nm conteniendo ARNdc que al parecer están ampliamente distribuidas en cepas "killer" de estas levaduras (Buck *et al.*, 1973; Herring y Bevan, 1974; Duzhak *et al.*, 1985). Adler *et al.* (1976) al examinar al microscopio electrónico fracciones obtenidas a partir de cepas tipo K,S y N de *S. cerevisiae* encontraron que sólo las cepas K y N poseían tales partículas. Estas evidencias sugirieron que el carácter "killer" y la presencia de micovirus están estrechamente asociados.

Por otra parte, la correlación de un ARNdc con el fenómeno "killer" se estableció al descubrirse que la herencia citoplasmática de este fenómeno estaba determinada por dos moléculas de ARNdc, P1(L) y P2(M), con pesos moleculares de 2.15 y 1.4 x 10⁶ daltones respectivamente (Bevan *et al.*, 1973). Igualmente, en la progenie de cruzas de cepas K x S se determinó la presencia de ambas moléculas, P1(L) y P2(M), mientras que al cruzar cepas S x S sólo fue heredada la especie molecular P1(L). Fue establecida otra prueba acerca de la relación del ARNdc con el fenotipo "killer" una vez que se demostró que las mutantes obtenidas a partir de cepas K, incapaces o defectivas para la producción de la toxina y la condición de inmunidad, perdían el ARNdc tipo P2(M).

En el hongo *Ustilago maydis*, conocido en México, popularmente, como "huitlacoche", existen cepas que excretan una toxina proteica capaz de matar o inhibir la reproducción de otras cepas del hongo (Shelbourn *et al.*, 1988). En dichos especímenes, tanto el carácter "killer" como la resistencia hacia la toxina están determinados citoplasmáticamente, dado que cruzas de cepas "killer" (P2) con sensibles (P1) forman un dicarion (P1 + P2) cuya progenie haploide resultante presenta el fenotipo P2, esto es, "killer" y resistente a la toxina.

Las cepas "killer" de este mismo hongo poseen partículas virales de 40 nm de diámetro aproximadamente con especies moleculares de ARNdc, cuyos pesos moleculares corresponden a 0.56, 0.70, 2.60 y 2.90 x 10⁶ daltones (Koltin y Day, 1976; Koltin, 1977). Se ha sugerido que el ARNdc de 0.7 x 10⁶ daltones se relaciona directamente con la función "killer" dado que en su ausencia no se sintetiza la toxina proteica (Koltin y Kandel, 1978). Aparentemente, el fenómeno "killer" de *Ustilago* es similar en muchos aspectos al que ha sido estudiado en levaduras, aunque en ellas ya han sido descritos cierto número de genes nucleares involucrados en el mantenimiento y la expresión de la condición "killer", mientras que en *Ustilago* no se han descrito hasta ahora genes nucleares relacionados al carácter "killer".

COMENTARIOS GENERALES

Los trabajos que desarrollara Shope con ciertos hongos verdes que aislara a partir del marco de una fotografía de su esposa despertaron una inesperada curiosidad científica que posteriormente dio lugar al descubrimiento de los micovirus. El estudio de este tipo tan peculiar de virus, hecho por el cual algunos autores los hayan catalogado como una "nueva dimensión de la Microbiología", ha generado conocimientos que abren nuevas perspectivas tanto para las ciencias microbiológicas como para la micología en particular. Sin embargo, aún actualmente, para muchos micólogos resulta novedoso, e inclusive sorprendente tener conocimiento de que en la mayoría de los hongos, con especial énfasis en aquellos de reproducción asexual, ha sido descrita la existencia de partículas de tipo viral. Lo anterior, como un ejemplo más del amplio rango del espectro de interacciones simbióticas interespecíficas presentes en los seres vivos.

Como se ha referido, estos elementos extracromosómicos poseen ciertas características o propiedades muy particulares que los distinguen del resto de los virus animales o vegetales. Sus genomas son de ARNdc multisegmentados, empaquetados en cápsides, independientemente. Como grupo tienden a tener más de un componente de sedimentación y sus nucleocápsides pueden ser diferentes inmunológicamente. Se replican por duplicación y paralelamente al hospedante, probablemente, como resultado de una adaptación coevolutiva que, en el transcurso del tiempo, ha favorecido su permanencia en el hongo. Se mantienen en las células, usualmente, en estado latente, ocasionando en algunos casos enfermedades al hospedante. Se transmiten por anastomosis de hifas compatibles (transmisión lateral) o por procesos de conidiogénesis (transmisión en serie). Dicha sincronía o paralelismo entre su transmisión y la transferencia del material celular de una generación a otra podría considerarse como consecuencia de una estrecha coevolución de las cepas portadoras y sus virus. Lo anterior los condicionan para que, ya sea como viriones o partículas libres, carezcan de la potencialidad infectiva que caracteriza a los virus auténticos o clásicamente estudiados. Tanto en levaduras como en *U. maydis* se ha visto que el fenómeno "killer" está relacionado con los ácidos nucleicos de los micovirus. Existe un gran campo de investigación aún muy poco explotado, especialmente en México y otros países de Latinoamérica acerca de las implicaciones de estos agentes sobre el comportamiento fisiológico de los hongos.

Su capacidad para inducir la producción de interferón podría tener amplias repercusiones en la lucha contra las enfermedades virales en el hombre y los animales. Igualmente, los micovirus son de interés para el estudio de hongos fitopatógenos de importancia agrícola (Gupta, 1991; Jamil y Buck, 1991; Ghabrial y Havens, 1992; Shepherd, 1992; Nogawa *et al.*, 1993). Además, podrían tener repercusiones prácticas en programas de control biológico de hongos fitopatógenos. Por ejemplo, en *Lagena radicola*, parásito de la raíz del trigo, han sido descubiertos micovirus cuya presencia se ha asociado con la degeneración celular que aparece en las células fúngicas portadoras del virus (Barr y Desaulniers, 1990). Asimismo, se han relacionado con la pérdida o atenuación de la virulencia en otros hongos

patógenos de plantas, como ocurre con las cepas hipovirulentas de *Cryphonectria parasitica*, cuyas partículas virales de ARNdc, aparentemente son las responsables del fenotipo hipovirulento. Estas cepas, además, presentan ciertos rasgos que las distinguen de las cepas virulentas libres de virus (Larson *et al.*, 1992; Larson y Nuss, 1993; Shapira *et al.*, 1991a; 1991b).

Asimismo, constituyen sistemas adecuados para estudiar la relación huésped-parásito entre eucariotes y virus. Estos peculiares elementos extracromosómicos proporcionan, además, un modelo adecuado para abordar aspectos teóricos referentes a las relaciones simbióticas hongo-micovirus. Lo anterior, debido a que dependiendo del tipo de equilibrio dado entre ambos componentes, las interacciones podrían variar entre mutualismo, comensalismo o parasitismo (Bulmer y Fromtling, 1983).

LITERATURA CITADA

- Adler, J., H.A. Wood, R.F. Bozarth, 1976. Virus-like particles from killer, neutral and sensitive strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Virol.* 17: 472-476.
- Banks, G.T., K.W. Buck, E.B. Chain, F. Himmelweit, J.E. Marks, J.M. Tyler, M. Hollings, F.T. Last, O.M. Stone, 1968. Viruses in fungi and interferon stimulation. *Nature* 218: 542-545.
- Banks, G.T., K.W. Buck, E.B. Chain, J.E. Darbyshire, F. Himmelweit, 1969. *Penicillium cyaneo-fulvum* virus and interferon stimulation. *Nature* 223: 155-158.
- Barr, D.J.S., N.L. Dasaulniers, 1990. The life cycle of *Lagena radicolica*, an oomycetous parasite of wheat roots. *Can. J. Bot.* 68: 813-824.
- Barroso, G., L. Labarere, 1990. Evidence for viral and naked double-stranded RNAs in the basidiomycete *Agrocybe aegerita*. *Curr. Genet.* 18: 231-237.
- Bevan, E.A., A.J. Herring, D.J. Mitchell, 1973. Preliminary characterization of two species of dsRNA in yeast and their relationship to the "killer" character. *Nature* 245: 81-86.
- Boeke, J.D., K.B. Chapman, 1991. Retrotransposition mechanisms. *Curr. Op. Cell Biol.* 3: 502-507.
- Border, D.J., 1972. Electron microscopy of cells of *Saccharomyces cerevisiae* infected with double-stranded RNA viruses from *Aspergillus niger* and *Penicillium stoloniferum*. *Nat. New Biol.* 236: 87-88.
- Borré, E., L.E. Morgantini, V. Ortali, A. Tonolo, 1971. Production of lytic plaques of viral origin in *Penicillium*. *Nature* 229: 568-569.
- Bozarth, R.F., 1972. Mycoviruses: a new dimension in Microbiology. *Environ. Health Perspect.* 2: 23-29.
- Bozarth, R.F., 1977. Biophysical and biochemical characterization of virus like particles containing a high molecular weight dsRNA from *Helminthosporium maydis*. *Virology* 80: 149-157.
- Buck, K.W., 1975. Replication of double-stranded RNA in particles of *Penicillium stoloniferum* virus S. *Nucleic Acids Res.* 2: 1889-1901.
- Buck, K.W., 1988. From interferon induction to fungal viruses. *Eur. J. Epidemiol.* 4: 395-399.
- Buck, K.W., E.B. Chain, F. Himmelweit, 1971. Comparison of interferon induction in mice by purified *Penicillium chrysogenum* virus and derived double-stranded RNA. *J. Gen. Virol.* 12: 131-139.
- Buck, K.W., R.F. Girvan, 1977. Comparison of the biophysical and biochemical properties of *Penicillium cyaneo-fulvum* virus and *Penicillium chrysogenum* virus. *J. Gen. Virol.* 34: 145-154.
- Buck, K.W., G.F. Kempson-Jones, 1973. Biophysical properties of *Penicillium stoloniferum* virus S. *J. Gen. Virol.* 18: 223-235.
- Buck, K.W., P. Lhoas, D.J. Border, 1973. Virus particles in yeast. *Biochem. Soc. Trans.* 1: 1141-1142.

- Buck, K.W., G. Ratti, 1975a. A model for the replication of double-stranded ribonucleic acid mycovirus. *Biochem. Soc. Trans.* 3: 542-544.
- Buck, K.W., G. Ratti, 1975b. Biophysical and biochemical properties of two viruses isolated from *Aspergillus foetidus*. *J. Gen. Virol.* 27: 211-224.
- Buck, K.W., G. Ratti, 1977. Molecular weight of double-stranded RNA: a reexamination of *Aspergillus foetidus*. *J. Gen. Virol.* 37: 215-219.
- Bulmer, G.S., R.A. Fromling, 1983. Pathogenic mechanisms of mycotic agents. In: D.H. Howard (ed.), *Fungi Pathogenic for Humans and Animals, Part B. Pathogenicity and Detection*. Marcel Dekker, New York, pp. 1-59.
- Chen, K., P. Liang, 1988. A new double-stranded RNA virus from *Volvariella volvacea*. *Mycologia* 80: 849-853.
- DeMarini, D.M., C.P. Kurtzman, D.I. Fennell, K.A. Worden, R.W. Detroy, 1977. Transmission of PsV-F and PsV-S mycoviruses during conidiogenesis of *Penicillium stoloniferum*. *J. Gen. Microbiol.* 100: 59-64.
- Detroy, R.W., D.M. DeMarini, P.E. Still, 1978. Mycoviruses of *Penicillium stoloniferum*: influence of carbon-nitrogen nutrition upon replication. *Can. J. Microbiol.* 24: 947-953.
- Detroy, R.W., P.E. Still, 1975. Fungal metabolites and viral replication in *Penicillium stoloniferum*. *Dev. Ind. Microbiol.* 16: 145-151.
- Dickinson, M.J., A.J. Pryor, 1989. Encapsidated and unencapsidated double-stranded RNAs in flax rust, *Melampsora lini*. *Can. J. Bot.* 67: 1137-1142.
- Duzhak, A.B., A.N. Kostomakha, N.N. Lobova, V.F. Podgorny, N.N. Nosik, 1985. Natural interferon inducers: double-stranded RNA of killer plasmids of *Saccharomyces cerevisiae*. *Antibiot. Med. Biotekhnol.* 30: 19-21.
- Ellis, L.F., W.J. Kleinschmidt, 1967. Virus-like particles of a fraction of statolon a mould product. *Nature* 215: 649-650.
- Finch, J.T., 1970. Intracellular appearance and some morphological features of virus-like particles in an ascomycete fungus. *Virology* 42: 534-537.
- Fink, G.R., C.A. Styles, 1972. Curing of killer factor in *Saccharomyces cerevisiae*. *P.N.A.S., U.S.A.* 69: 2846-2849.
- Garrison, R.G., A.M. Fiskin, 1986. Virus-like particles in *Basidiobolus* species. *Mycopathologia* 95: 139-144.
- Ghabrial, S.A., W.N. Havens, 1992. The *Helminthosporium victoriae* 190S mycovirus has two forms distinguishable by capsid protein composition and phosphorylation state. *Virology* 188: 657-665.
- Gupta, S., 1991. Newer evidence to demonstrate mycovirus of *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* as casual agent of mango shoot malformation. *J. Ent. Res. (New Delhi)* 15: 222-228.
- Hansen, L.J., D.L. Chalker, K.J. Orlinsky, S.B. Sandmeyer, 1992. Ty3 GAG3 and POL3 genes encode the components of intracellular particles. *J. Virol.* 66: 1414-1424.
- Herring, A.J., E.A. Bevan, 1974. Virus-like particles associated with the double-stranded RNA species found in killer and sensitive strains of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Gen. Virol.* 22: 387-394.
- Hollings, M., 1962. Viruses associated with a die-back disease of cultivated mushroom. *Nature* 196: 962-965.
- Jamil, N., K.W. Buck, 1991. Effect of vegetative incompatibility on double stranded RNA and mycovirus transmission in *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Pak. J. Bot.* 23: 160-164.
- Kaplan, I.B., M.E. Taliansky, S.I. Malysenko, V.I. Ogarkov, J.G. Atabekov, 1988. Effect of human interferon on reproduction of plant and mycoviruses. *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz* 24: 3-8.
- Kazama, F.Y., K.L. Schomstein, 1972. Herpes-type virus particles associated with a fungus. *Science* 177: 696-697.
- Kazama, F.Y., K.L. Schomstein, 1973. Ultrastructure of a fungus herpes type virus. *Virology* 52: 478-487.
- Klassen, G.R., W.K. Kim, D.J.S. Barr, N.L. Desaulniers, 1991. Presence of double-stranded RNA in isolates of *Pythium irregulare*. *Mycologia* 83: 657-661.
- Koltin, Y., 1977. Virus-like particles in *Ustilago maydis*: mutants with partial genomes. *Genetics* 86: 527-534.
- Koltin, Y., R. Day, 1976. Inheritance of killer phenotypes and double-stranded RNA in *Ustilago maydis*. *P.N.A.S. U.S.A.* 73: 594-598.
- Koltin, Y., J.S. Kandel, 1978. Killer phenomenon in *Ustilago maydis*: the organization of the viral genome. *Genetics* 88: 267-276.

- Kozlova, T.M., 1973. Virus-like particles in yeast cells. *Mikrobiologiya* 42: 745-747.
- Lampson, G.P., A.A. Tytell, A.K. Field, N.M. Nemes, M.R. Hilleman, 1967. Inducers of interferon and host resistance. I. Double-stranded RNA from extracts of *Penicillium funiculosum*. *P.N.A.S. U.S.A.* 58: 782-789.
- Larson, T.G., G.H. Choi, D.L. Nuss, 1992. Regulatory pathways governing modulation of fungal gene expression by a virulence-attenuating mycovirus. *EMBO J.* 11: 4539-4549.
- Larson, T.G., D.L. Nuss, 1993. Cyclophilin-dependent stimulation of transcription by cyclosporin A. *P.N.A.S. U.S.A.* 90: 148-152.
- Lemke, P.A., 1973. Lytic plaque formation and variation in virus titer among strains of *Penicillium chrysogenum*. *J. Gen. Microbiol.* 76: 265-275.
- Lemke, P.A., 1976. Viruses of eucaryotic microorganisms. *Ann. Rev. Microbiol.* 30: 105-145.
- Lemke, P.A., 1981. Viruses of Conidial Fungi. In: Cole, G.T., B. Kendrick, (ed.) *Biology of Conidial Fungi*. Academic Press, New York, pp. 395-416.
- Lemke, P.A., T.M. Ness, 1970. Isolation and characterization of a double-stranded ribonucleic acid from *Penicillium chrysogenum*. *J. Virol.* 6: 813-819.
- Lhoas, P., 1971. Transmission of double stranded RNA viruses to strain of *Penicillium stoloniferum* through heterokaryosis. *Nature* 230: 248-249.
- Lindergren, C.C., Y.N. Bang, T. Hirano, 1962. Progress report in the Zymophage. *Trans. N.Y. Acad. Sci.* 24: 540-566.
- Mayhew, D.E., A.L. Cook, T.J. Gulya, 1992. Isolation and characterization of a mycovirus from *Plasmopara halstedii*. *Can. J. Bot.* 70: 1734-1737.
- Mier, T., 1979. Una revisión de la literatura sobre la importancia de los micovirus como patógenos potenciales de los hongos. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 13: 257-260.
- Moriya, K., H. Shimoi, S. Sato, K. Saito, M. Tadenuma, 1989. Ethanol fermentation of beet molasses by a yeast resistant to distillery waste water and 2-deoxyglucose. *J. Ferment. Bioeng.* 67: 321-323.
- Murrin, G., W. Newcomb, I.B. Heath, 1987. Ultrastructure of virus-like particles in hyphae of *Entomophaga aulicae*. *Mycologia* 79: 644-649.
- Nesterova, G.F., J. Kyamer, T.M. Kozlova, 1974. The possible intercellular transfer of virus-like particle from *Candida tropicalis* to *Saccharomyces cerevisiae*. *Mikrobiologiya* 43: 930-932.
- Nesterova, G.F., J. Kyamer, Y.D. Soon, 1973. Virus-like particles in *Candida tropicalis*. *Mikrobiologiya* 43: 162-165.
- Newhouse, J.R., W.L. MacDonald, 1991. The ultrastructure of hyphal anastomoses between vegetatively compatible and incompatible virulent and hypovirulent strains of *Cryphonectria parasitica*. *Can. J. Bot.* 69: 602-614.
- Newhouse, J.R., P.W. Tooley, O.P. Smith, R.A. Fishel, 1992. Characterization of double-stranded RNA in isolates of *Phytophthora infestans* from Mexico, the Netherlands and Peru. *Phytopathology* 82: 164-169.
- Nogawa, M., M. Shimosaka, T. Kageyama, M. Okazaki, 1993. A double-stranded RNA mycovirus from the plant pathogenic fungus, *Fusarium solani* sp. *robiniae*. *FEMS, Microbiol. Lett.* 110: 153-157.
- Nolan, R.A., C.J. Clovis, W.S. Davidson, 1988. Microbodies and a virus like particle in *Entomophaga aulicae*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 90: 315-318.
- Nosik, N.N., F.I. Ershov, D.V. Nikolaeva, L.A. Bukata, G.F. Nesterova, 1984. Interferon-inducing and antiviral activity of ds-RNA of yeast origin. *Vopr. Virusol.* 29: 718-720.
- Polonelli, L., G. Morace, 1988. Yeast killer toxin-like anti-idiotypic antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 26: 602-604.
- Ratti, G., K.W. Buck, 1972. Virus particles in *Aspergillus foetidus*: a multicomponent system. *J. Gen. Virol.* 14: 165-175.
- Ratti, G., K.W. Buck, 1979. Transcription of double-stranded RNA in virions of *Aspergillus foetidus* virus S. *J. Gen. Virol.* 42: 59-72.
- Romaine, C.P., B. Schlagnhauser, 1989. Prevalence of double-stranded RNAs in healthy and La France disease-affected basidiocarps of *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 81: 822-825.

- Rytter, J.L., D.J. Royle, C.P. Romaine, 1991. Incidence and diversity of double-stranded RNA in *Lentinula edodes*. *Mycologia* 83: 506-510.
- Sanderlin, R.S., S.A. Ghabrial, 1978. Physicochemical properties of two distinct types of virus-like particles from *Helminthosporium victoriae*. *Virology* 87: 142-151.
- Shapira, R., G.H. Choi, B.I. Hillman, D.L. Nuss, 1991a. The contribution of defective RNAs to the complexity of viral-encoded double-stranded RNA populations present in hypovirulent strain of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica*. *EMBO J.* 10: 741-746.
- Shapira, R., G.H. Choi, D.L. Nuss, 1991b. Virus-like genetic organization and expression strategy for a double-stranded RNA genetic element associated with biological control of chestnut blight. *EMBO J.* 10: 731-739.
- Shelbourn, S.L., P.R. Day, K.W. Buck, 1988. Relationships and functions of virus double-stranded RNA in a P4 killer strain of *Ustilago maydis*. *J. Gen. Virol.* 69: 975-982.
- Shepherd, H.S. 1992. Linear, non-mitochondrial plasmids of *Alternaria alternata*. *Curr. Genet.* 21: 169-172.
- Shope, R.E., 1953. An antiviral substance from *Penicillium funiculosum*. *J. Exp. Med.* 97: 601-605.
- Shope, R.E., 1966. An antiviral substance from *Penicillium stoloniferum*. *J. Exp. Med.* 124: 915-919.
- Snyder, B.A., G.C. Adams, D.W. Fulbright, 1989. Association of a virus-like particle with a disease isolate of *Leucostoma personii*. *Mycologia* 81: 241-247.
- Sonnenberg, A.S.M., L.J.L.D. van Griensven, 1987. Application of molecular and cell biology techniques in the improvement of mushroom cultivation. *Bedrijfsontwikkeling* 18: 248-252.
- Still, P.E., R.W. Detroy, C.W. Hesselstine, 1975. *Penicillium stoloniferum* virus: altered replication in ultraviolet derived mutants. *J. Gen. Virol.* 27: 275-281.
- Tikhonenko, T.I., G.A. Velikodvorskaya, A.F. Bobkova, Y.E. Bartoshevich, E.P. Lebed, N.M. Chaplygina, T.S. Maksimok, 1974. New fungal viruses capable of reproducing in bacteria. *Nature* 249: 454-456.
- Tzeng, T.H., C.L. Tu, J.A. Bruenn, 1992. Ribosomal frameshifting requires a pseudoknot in the *Saccharomyces cerevisiae* double-stranded RNA virus. *J. Virol.* 66: 999-1006.
- Ushiyama, R., 1986. Morphological properties of dsRNA fungal viruses. *Rep. Tottori Mycol. Inst.* 24: 239-242.
- Velikodvorskaia, G.A., 1974. Fisico-ximicheskie sboistsba micobirusa, bidlennovo is *Penicillium brevi-compactum*. *Vopr. Virusol.* 4: 442-445.
- Volkoff, O., T. Walters, 1970. Virus-like particles in abnormal cells of *Saccharomyces carlsbergensis*. *Can. J. Genet. Cytol.* 12: 621-626.
- Wickner, R.B., T. Icho, T. Fujimura, W.R. Widner, 1991. Expression of yeast L-A double stranded RNA virus proteins produces derepressed replication: a ski-phenocopy. *J. Virol.* 65: 155-161.
- Wood, H.A., R.F. Bozarth, P.B. Mislivec, 1971. Virus-like particles associated with an isolate of *Penicillium brevi-compactum*. *Virology* 44: 592-598.
- Wood, H.A., 1973. Double-stranded RNA viruses. *J. Gen. Virol.* 20: 61-85.
- Zelikovitch, N., Z. Eyal, B. Ben-Zvi, Y. Koltin, 1990. Double-stranded RNA mycoviruses in *Septoria tritici*. *Mycol. Res.* 94: 590-594.

Tabla I. Relación de especies de hongos donde se ha demostrado la presencia de los micovirus.

DIVISIÓN MYXOMYCOTA	
<i>Dictiostellium discoideum</i>	
DIVISIÓN EUMYCOTA	
SUBDIVISIONES	
Phycomycotina	Deuteromycotina
<i>Allomyces arbuscula</i>	<i>Alternaria alternata</i>
<i>Aphelidium</i> sp.	<i>Alternaria</i> sp.
<i>Basidiobolus haptosporus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>B. ranarum</i>	<i>A. foetidus</i>
<i>Entomophaga aulicea</i>	<i>A. niger</i>
<i>Lagenia radiculicola</i>	<i>Candida</i> sp.
<i>Olpidium brassicae</i>	<i>C. tropicalis</i>
<i>Paramoebidium arcuatum</i>	<i>Cephalosporium</i>
<i>Phytophthora infestans</i>	<i>chrysogenum</i>
<i>Plasmopara halstedii</i>	<i>Fusarium moliniiforme</i>
<i>Polymyxa graminis</i>	<i>F. solani</i>
<i>Polymyxa</i> sp.	<i>Helminthosporium maydis</i>
<i>Phythium irregulare</i>	<i>H. victoriae</i>
<i>Sclerophthora macrospora</i>	<i>Penicillium brevi-compactum</i>
<i>Spongospora</i> sp.	<i>P. chrysogenum</i>
<i>Synchytrium endobioticum</i>	<i>P. claviforme</i>
<i>Traustochytrium</i> sp.	<i>P. citrinum</i>
	<i>P. cyaneo fulvum</i>
Ascomycotina	<i>P. funiculosum</i>
<i>Cryphonectria parasitica</i>	<i>P. stoloniferum</i>
<i>Gaeumannomyces graminis</i>	<i>Rhodotorula</i> sp.
<i>Melampsora lini</i>	<i>Thielaviopsis basicola</i>
<i>Neurospora crassa</i>	
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>	Basidiomycotina
<i>S. cerevisiae</i>	<i>Agaricus bisporus</i>
<i>Peziza ostracoderma</i>	<i>Agrocybe aegerita</i>
	<i>Laccaria laccata</i>
	<i>Lentinus edodes</i>
	<i>Schizophyllum commune</i>
	<i>Ustilago maydis</i>

Tabla 2. Características biofísicas de los micovirus o partículas similares a virus (PSV) de ARN más estudiados.

HONGO	Diámetro de de las PSV nm	Tipo de ARN	Denominación de las PSV	ARN Especies Moleculares PMX10 ⁶ Daltones	Relaciones inmunológicas entre las PSV	
<i>Aspergillus foetidus</i>	40	=	AfV-L	2.76 2.24 0.11	NO	
		-	AfV-R	2.31 1.87 1.70 1.44		
<i>Helminthosporium maydis</i>	40	(-)	A	(-)	Entre B y C	
		=	B	(-)		
		=	C	6.3		
<i>Penicillium brevi-compactum</i>	40	=	110S	2.18 1.19 1.83	(-)	
		=	L	2.21 2.08 1.98		Con las PSV de <i>P. cyaneofulvum</i>
		-	H	(-)		
<i>P. chrysogenum</i>	35	(-)	E ₁ -E ₂	(-)	Con las PSV de <i>P. chrysogenum</i>	
		=	L	2.21 2.08 1.98 1.93		
		=	H	2.21 2.08 1.98 1.93		
		-	E ₁ -E ₂	(-)		
<i>P. cyaneofulvum</i>	35	=	PsV-L	1.00 0.94	Con las PSV de <i>P. chrysogenum</i>	
		=	PsV-R	0.99 0.89 0.23		
		-	H	(-)		
		(-)	E ₁ -E ₂	(-)		
<i>P. stoloniferum</i>	33	=	M	(-)	NO	
		-	E ₁ -E ₂	(-)		
		-				
		(-)				

=: ácido ribonucleico (ARN) de doble cadena; -: ARN de cadena sencilla; AfV-L, PsV-L: partícula con velocidad electroforética lenta; AfV-R, PsV-R: partícula con velocidad electroforética rápida; A, E₁-E₂: cápsides vacías; S: coeficiente de sedimentación en gradiente de densidad de sacarosa; (-): dato desconocido.

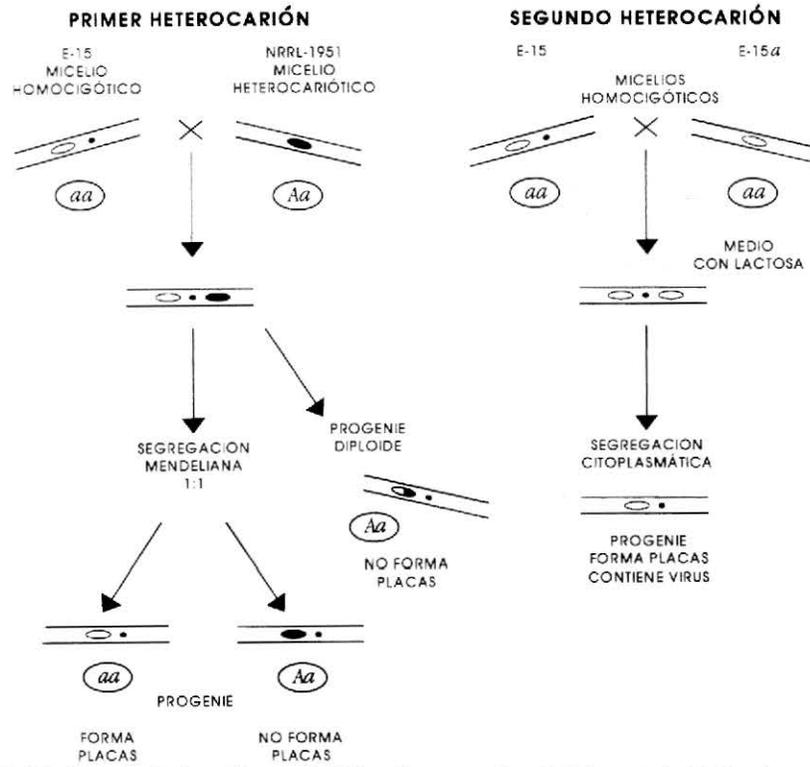


Fig. 1. La formación de placas líticas en *Penicillium chrysogenum* depende de la presencia del virus, de un alelo cromosómico recesivo y de lactosa en el medio de cultivo. I) La segregación mendeliana 1:1 en la progenie obtenida a partir del primer heterocarión demuestra que la formación de placas está controlada por los cromosomas. La progenie diploide no forma placas debido a que el alelo involucrado es el recesivo. II) La segregación no-mendeliana (citoplasmática) del virus a partir del segundo heterocarión corresponde al patrón segregacional extracromosómico. NRRL-1951: cepa silvestre parental no formadora de placas, lisogénica para el virus y con alelo dominante A. E-15: cepa mutante parental formadora de placas, derivada de la silvestre, poseedora de partículas virales en el citoplasma y con alelo recesivo a. E-15a: cepa parental no formadora de placas, derivada de la cepa E-15, sin virus (fenotípicamente igual a la NRRL-1951 pero carente del alelo dominante A. Alelos nucleares para formación de placas: A (dominante no formador de placas), a (recesivo formador de placas).