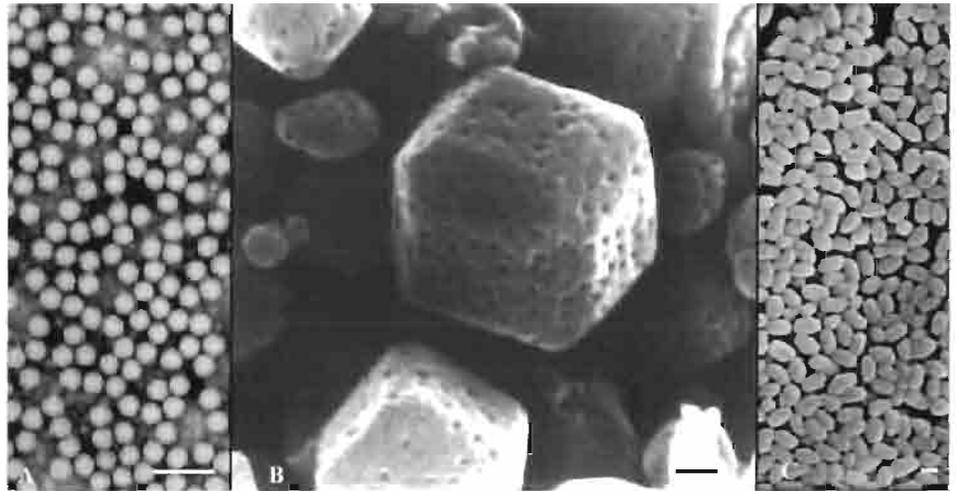


Los virus de insectos, un componente olvidado de la biodiversidad ecuatoriana

Por Álvaro R. Barragán y Jean-Louis Zeddam
(abarragan@puce.edu.ec) (jlzeddam@puce.edu.ec)



Fotos: Ilustración de la diversidad estructural de los entomovirus: A) Tetravirus del defoliador de palma africana *Setothosea asigna* (Lep.; Limacodidae)- B) Cypovirus del defoliador de palma africana *Norape argyrrhorea* (Lep.; Megalopygidae)- C) Granulovirus de la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Lep.; Gelechiidae). Barra= 100 nm.

Todos estos virus son usados para el control de sus hospederos-plagas.

Introducción

Al Ecuador se lo ha identificado como uno de los 17 países megadiversos del mundo. A pesar de que posee una superficie limitada, la biodiversidad encontrada es inmensa (18% de todas las especies de aves existentes en el planeta, se encuentran en Ecuador). Ciertos grupos de animales ya han sido bien documentados, especialmente los vertebrados. En cuanto a las plantas se calcula que existen aproximadamente entre 25 000 y 30 000 especies. Para otros grupos, el inventario existente es amplio, y éste se ve incrementado de manera substancial con nuevas especies descritas cada año. Los insectos representan el ejemplo más impactante, con aproximadamente más de medio millón de especies conocidas en el Ecuador, cuyo número

real debe ser duplicado, triplicado o incluso más. Si consideramos que los insectos se encuentran en el Ecuador en una proporción similar a la que existe a nivel global, ellos podrían representar aproximadamente el 80% de los organismos vivos presentes en el país.

Junto a los taxones más estudiados, existen grupos muy poco investigados. Los ejemplos más ilustrativos son los microorganismos y, particularmente, los virus. A pesar que no se observan a simple vista, estos microorganismos se encuentran en cada lugar del planeta y constituyen componentes mayores de los ecosistemas tanto terrestres como acuáticos (muestras tomadas en el mar mostraron concentraciones muy altas de virus, principalmente bacteriófagos). Por las características que tienen y en particular su tamaño

(menos de 20 nanómetros de diámetro para los más pequeños) su estudio no es siempre de fácil alcance, especialmente en los países en vías de desarrollo. Generalmente en estos países, se brinda atención únicamente a aquellos agentes que producen algún tipo de daño a la salud humana, a productos de interés agrícola o acuícola. Por este motivo, los virus conllevan generalmente una imagen muy negativa en la mente del público, el cual tiene una visión muy limitada de la realidad. Por eso, se necesita ampliar de manera significativa los estudios sobre los virus no relacionados con enfermedades o daños agrícolas, con el propósito de esclarecer su importante papel. A partir de estos conocimientos, se podrá aprovechar ampliamente dicha biodiversidad para el beneficio del hombre. Para

ilustrar el interés de estos estudios tomaremos el ejemplo de los virus de insectos o entomovirus.

¿Qué son los virus?

En primer lugar, hay que recordar que los virus son parásitos intracelulares obligados. Porque no tienen metabolismo propio vienen a ser estrictamente dependientes a organismos vivos. No se conoce con certeza el origen de los virus. Una de las hipótesis más aceptada menciona que los virus derivan de elementos de ADN que desarrollaron la capacidad de replicarse y movilizarse independientemente del genoma de donde provenían. Los virus se encuentran en todos los grupos de organismos conocidos: bacterias, algas, plantas, invertebrados y vertebrados. Se considera que cada especie viva está infectada por uno o varios virus. En base a este hecho, la cantidad de virus superaría ampliamente al número de cualquier grupo de especies. De manera análoga, los entomovirus serían los más abundantes dada la diversidad de hospederos existentes. A pesar de esto, sólo se conocen un poco más de 3 000 especies de virus de insectos repartidas en 18 familias (más varios virus que no han sido clasificados todavía). De acuerdo a las consideraciones previas, es obvio que actualmente sólo tenemos acceso a una fracción mínima de lo que existe. Debido a que el esfuerzo de búsqueda sistemática de entomovirus es muy bajo.

La *Tecia solanivora*

En el Ecuador, la PUCE y el IRD (Instituto Francés de Investigación para el Desarrollo), en colaboración con otras instituciones nacionales como el INIAP (Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias), investigan los virus entomopatógenos de la polilla guatemalteca de la papa, *Tecia solanivora* (Lep., Gelechiidae). Esta especie invasora, en-

tró por la frontera con Colombia en 1996, y desde entonces causa altas pérdidas económicas (supera los seis millones de dólares al año, sólo en la provincia del Carchi). Al inicio del trabajo, únicamente se conocía un virus que infectaba a la plaga. Este virus era, además, el único entomovirus reportado en el Ecuador (es decir el único virus que infectaba exclusivamente a insectos, sin considerar los virus que afectaban a vegetales o vertebrados y que se propagan gracias a un artrópodo vector).

Un cribado de las poblaciones ecuatorianas de *T. solanivora* permitió identificar rápidamente a más de 10 nuevos virus pertenecientes a seis familias distintas. Al menos dos de estos virus no caben en la actual taxonomía viral, por lo que son representantes de nuevos grupos aún no descritos. Encontrar tal variedad y abundancia de virus, en una única especie de insecto no debe sorprender. Existen reportes de casos análogos en la literatura científica. Por ejemplo, las enfermedades que afectan al gusano de seda, *Bombyx mori*, estudiadas por el interés económico que representa esta especie fueron el objeto de numerosos estudios y más de 15 virus han sido relacionados a estas enfermedades. Hay que recalcar que, muy a menudo, cada grupo de virus infecta específicamente a tal(es) tejido(s) del hospedero. A una escala inferior, se debe subrayar que la replicación viral suele desarrollarse en compartimentos celulares diferentes (núcleo, citoplasma), según el virus que se considere. Estos aspectos en conjunto, dan como resultado un incremento significativo de los potenciales nichos ecológicos dentro de un hospedero. Así, se han encontrado hasta cinco virus de diferentes grupos infectando al mismo tiempo a una misma célula del lepidóptero *Trichoplusia ni*. En base a estos datos y a los resultados ya obtenidos por el grupo PUCE-IRD, se pue-

den esperar más descubrimientos, si continúa el muestreo de las poblaciones ecuatorianas de *T. solanivora*. El interés de realizar una bioprospección para encontrar entomovirus es múltiple y abarca conocimientos académicos (entendimiento de la influencia de los virus en la dinámica de la biósfera), así, como razones económicas.

Interacciones entre los entomovirus y sus hospederos

Estas relaciones son varias, complejas y sin duda no todas son conocidas. La más reconocida es la aparición de síntomas (enfermedad), generalmente seguidos por la muerte del insecto. Los virus que exhiben infecciosidad y patogenicidad altas son susceptibles de provocar importantes mortalidades, y son los que mayor interés tienen para el control de plagas agrícolas. Un ejemplo muy demostrativo de las potencialidades de estos entomopatógenos existe en Brasil, donde se aplica anualmente un bioplaguicida a base de nucleopolihedrovirus, sobre dos millones de hectáreas de soya, para controlar a *Anticarsia gemmatalis*. Este control, por aplicación masiva del virus, es el más frecuentemente usado en la agricultura. Pero la introducción (en una sola vez) de un nuevo virus en un ecosistema, puede también dar resultados muy contundentes. Así, tenemos el caso de *Oryctes rhinoceros*, cuyas poblaciones presentes en unas islas del Pacífico fueron drásticamente reducidas en poco tiempo, después de la introducción voluntaria de un virus aislado de la misma especie en Malasia. Subsecuentemente, los daños a los cocoteros bajaron a menos del 1%, en relación a años anteriores.

Pero las interacciones entre los entomovirus y sus hospederos son mucho más diversas y no se limitan a fenómenos de patogenicidad y muerte. También, existen infecciones latentes donde el virus se

mantiene en el organismo sin síntomas aparentes. En este caso, el estrés puede llevar a una ruptura del equilibrio virus-hospedero, y producir la aparición de la enfermedad. De hecho, muchas crías de insectos aparentemente sanas (e incluso cultivos de tejidos de insectos) están en realidad infestadas por este tipo de virus.

Aspectos en los que los entomovirus pueden tener efecto

Entre las infecciones agudas y latentes existe un amplio rango de respuestas moduladas, tanto por el genoma del entomovirus como por el genoma y el estado fisiológico del hospedero. Así, los entomovirus pueden tener efecto sobre los siguientes aspectos:

1. Parámetros bióticos: reducción del tiempo de vida, del número de huevos puestos, etc., de los individuos infectados.
2. Fenotipo: por ejemplo, un reovirus transmitido de manera hereditaria por las hembras provoca la absorción de la formación de setas en los adultos de drosófila. De manera similar, existe un rhabdovirus que provoca una sensibilidad de las drosófilas al gas carbónico.
3. Comportamiento: un virus transmitido verticalmente (en la línea maternal), parece ser responsable de que la microavispa *Leptopilina bouvardi* deposite varios huevos sobre las larvas de *Drosophila* sp. (superparasitismo), en vez de un solo huevo cuando se trata de hembras no infectadas por el virus. Esta estrategia favorecería la dispersión del virus, que puede así contaminar horizontalmente individuos inicialmente sanos presentes en la misma larva de drosófila.
4. Fisiología y metabolismo: en particular, en los baculovirus que expresan un gen (*egt*), cuyo producto (enzima) inac-

tiva los ecdisteroides (hormonas involucradas en las mudas y metamorfosis del insecto), lo que provoca un atraso de la muda o ecdisis. Esta estrategia es favorable al virus, ya que las larvas infectadas ganan más peso y proporcionan una mayor cantidad de tejidos para la multiplicación del patógeno que puede producir más progenie.

5. Defensas inmunitarias y celulares: las avispas parasitoides de las familias Braconidae e Ichneumonidae son capaces de suprimir la respuesta inmunitaria de las larvas de lepidópteros a las que parasitan, lo que evita que los huevos puestos sean eliminados. Este resultado se logra gracias a la presencia de polydnavirus en el calix de las hembras, que van a ser inyectados en la presa con los huevos. Como consecuencias de la expresión de los genes virales, se observa la supresión de la melanización de la hemolinfa y la reacción de encapsulación en las larvas parasitadas. Éste es el único ejemplo de simbiosis conocido entre un virus y un insecto (avispa).

La apoptosis representa una eficiente repuesta de defensa por parte de un hospedero a la infección de un virus. De hecho, el suicidio de las células infectadas permite eliminar el patógeno del organismo. En varios baculovirus se han encontrado genes anti-apoptosis (*p35*, *iap*), cuya expresión resulta en la inhibición de la apoptosis, lo que favorece la multiplicación viral.

Estos ejemplos muestran que los entomovirus permiten abordar muchos temas muy interesantes. Además, representan excelentes herramientas para estudiar el funcionamiento de las células de insectos, mediante la utilización de cultivos de tejidos.

Los virus y la biotecnología

Además del interés académico, cabe señalar que los virus en general constituyen una muy valiosa fuente de genes usables en biotecnología. Esto puede comprobarse al revisar los catálogos de los proveedores de reactivos para biología molecular. Los genes de diferentes enzimas virales fueron clonados y sus productos son de uso diario en muchos laboratorios: Transcriptasa inversa, ADN polimerasa, ARN polimerasa, ADN ligasa, polinucleotido kinasa, etcétera. También se han construido plásmidos, que contienen promotores de virus, que permiten una expresión muy alta de los genes de interés clonados en aval. Algunos plásmidos vienen combinados con la topoisomerasa I viral, para la clonación directa de productos de PCR. Otros incorporan secuencias-señales de origen viral tales como promotores de transcripción de ARNm, señal de terminación de transcripción, señal de poliadenilación, señal para la excreción de las proteínas sintetizadas...etc. Sin estos reactivos, la investigación y la producción de sustancias de alto valor agregado (en medicina, farmacología, etc...) no hubiese sido posible. De hecho, muchas proteínas usadas en las áreas medicinales, farmacéuticas u otras son actualmente producidas *in vitro* usando sistemas basados en los baculovirus.

Los virus se multiplican a gran velocidad (decenas hasta millares de veces más rápidamente que sus hospederos) y de manera muy abundante (millones de copias del genoma pueden ser producidos durante la infección de un único hospedero). Eso les da la posibilidad de evolucionar más rápidamente que todo eucariota. Además, esto es obvio para los virus con genoma de ARN (ribovirus), que tienen una tasa de mutación por nucleótido de 1 000 a 10 000 veces más alta que la de los genomas constituidos de ADN. Los vi-

rus pueden así aparecer como máquinas con grandes capacidades de creación y "evaluación" de nuevos genes. Eso sin hablar de las posibilidades de recombinación y de la captura de pedazos de ADN, por transferencia desde el hospedero u otros microorganismos presentes en la misma célula. Así, los entomovirus son el grupo de virus más numeroso, diverso y con la mayor fuente de nuevos genes.

Conclusión

Los entomovirus son un grupo de gran interés científico y que presentan un alto potencial económico. Este último aspecto es la base para realizar investigaciones más sistemáticas, particularmente en países como el Ecuador, donde todo queda por hacer. De hecho, la abundancia y diversidad exhibidas al nivel macroscópico en zonas tropicales, debe recordarnos que tiene una contraparte similar en el mundo microbiano. El descubrimiento de un nuevo gen de interés de origen viral podría generar, una vez explotado comercialmente, ingresos que superarían a las utilidades de algunos sectores agropecuarios nacionales. De manera que cuando encontremos larvas muertas en nuestro jardín o en el bosque, recordemos que en su interior yace tal vez una fuente de riqueza potencial que solamente espera ser investigada.

Literatura consultada

M. H. V. Regenmortel, C. M. Fauquet, D. H. L. Bishop, E. B. Carstens, M. K. Estes, S. M. Lemon, J. Maniloff, M. A. Mayo, D. J. McGeoch, C. R. Pringle, R. B. Wickner. 2000. *Virus Taxonomy. Classification and nomenclature of viruses. Seventh report of the international committee on taxonomy of viruses*. Academic Press, San Diego.

Caracterización de secuencias de ADN repetidas en tandem (STRs) en población mestiza ecuatoriana

Por César Paz y Miño
(cpazymino@puce.edu.ec)

Actualmente los estudios de las poblaciones están encaminados a identificar, mediante ensayos con genética molecular, características o marcadores propios de cada grupo, con la finalidad de reconocer, relacionar o comprender los orígenes, parentescos o distancias genéticas de las poblaciones o individuos. Los marcadores genéticos que más información proporcionan en este campo son pequeñas secuencias del ADN que se repiten unas tras de otras y que se denominan STRs (Short Tandem Repeats) o microsátélites. Luego de un trabajo de cuatro años, se ha logrado obtener importantes datos sobre las frecuencias de los STRs en población ecuatoriana.

Los STRs pueden variar en el número de repeticiones en el genoma y en el número de bases químicas (Adenina, Guanina, Citosina y Timina) de cada repetición. La mayoría de STRs tiene entre 2 a 7 pares de bases que se repiten entre 5 a 20 veces. Estas secuencias están esparcidas por todo el genoma, se las puede encontrar cada 15 mil pares de bases, y se calcula que existen unas doscientas mil en todo el genoma humano. Justamente, es el número de repeticiones y las innumerables posibilidades combinatorias, lo que proporciona la gran variabilidad de los STRs en las poblaciones humanas. Estas variedades o diferencias en la

secuencia genética, y que normalmente no producen efecto alguno en los individuos, se denominan polimorfismos. Los polimorfismos se encuentran, por tanto, en personas o en poblaciones enteras y confieren características propias a los grupos étnicos. Se acepta que un polimorfismo se presenta cuando la frecuencia del alelo es mayor al 1%, mientras que mutación se refiere a un cambio del ADN, que afecta al fenotipo y presenta una frecuencia menor de 0,5% en la población. Frecuencias entre 0,5 y 1 se refieren a polimorfismos raros.

En el ADN se encuentran muchas regiones polimórficas, que al ser heredadas por vía materna y paterna, los individuos presentan dos juegos de secuencias variantes o haplotipos. Los STRs constituyen una de las secuencias más variables o polimórficas en los seres humanos y su utilidad es múltiple: ubicar genes en el genoma, marcadores genéticos de asociación con características físicas o patológicas, y son útiles para estudios de evolución, selección o migración de poblaciones y el origen de éstas.

Existen muy pocos estudios sobre STRs en la población ecuatoriana, lo que impulsó a estudiar 17 STRs que son los recomendados internacionalmente para tipificar poblaciones, teniendo como finalidad conocer sus frecuencias, aplicarlos en las pruebas de identi-

Barragán A., Zeddani Jean-Louis (2005)

Los virus de insectos : un componente olvidado de la
biodiversidad ecuatoriana

Nuestra Ciencia, (7), 9-12

ISSN 1390-1893