

Virus en plantas

Las plantas, al igual que cualquier otro organismo, pueden enfermarse e inclusive morir a causa de alguna patología. Los agentes patógenos que infectan y enferman a las plantas son de diversa naturaleza; entre ellos cabe mencionar a los hongos, bacterias, insectos y virus (ver Cuaderno N° 93). Estos últimos son de gran importancia agronómica ya que se encuentran ampliamente distribuidos y producen importantes pérdidas en la producción de la mayoría de los cultivos. Actualmente, y ya desde hace más de medio siglo, los virus vegetales son estudiados por numerosos grupos científicos para entender sus mecanismos de infección y conocer las interacciones entre estos patógenos y sus plantas hospedadoras. Hoy en día es importante entender esta compleja interacción para la búsqueda y el desarrollo de nuevas estrategias que permitan combatir el ataque de estos agentes patógenos. La biotecnología puede hacer uso de estos conocimientos para el desarrollo de numerosas estrategias de protección antiviral mediante técnicas de ingeniería genética y trasngénesis vegetal.

¿Qué son los virus vegetales?

Hacia fines del siglo XIX ya se tenía indicios de la existencia de virus vegetales. Sin embargo, no fue hasta la década de 1930 cuando se logró identificar y aislar el primer virus de plantas (Virus del mosaico del tabaco, TMV). En la actualidad, se definen a los virus vegetales como partículas infecciosas que actúan como parásitos intracelulares obligados. Se los considera parásitos intracelulares obligados ya que solo pueden replicarse y completar su ciclo de infección dentro de una célula hospedadora adecuada. Por lo general, los virus se encuentran formados por una cubierta proteica (cápside, CP) que rodea y contiene su material genético (ver Cuaderno n° 3, 32).

Hasta el momento, se llevan identificados más de 700 virus que se clasifican en diversos géneros según la estructura de su cápside, la naturaleza de su genoma (ver Cuaderno n° 120), su forma de transmisión, su hospedante y sus mecanismos de replicación e infección.

Los virus de plantas pueden tener genomas de ARN o de ADN. La gran mayoría de éstos poseen genomas ARN y se caracterizan por ser pequeños, con un genoma que puede variar entre los 4 mil y 20 mil nucleótidos. Por lo general, sus genomas codifican

pocas proteínas, las cuales deben cumplir todas las funciones necesarias para completar su ciclo de infección.

Los virus vegetales pueden clasificarse de acuerdo a la estructura de su cápside: algunos tienen una cápside que adopta una forma icosaédrica, mientras que otros poseen una estructura tubular rígida (ver figura 1).

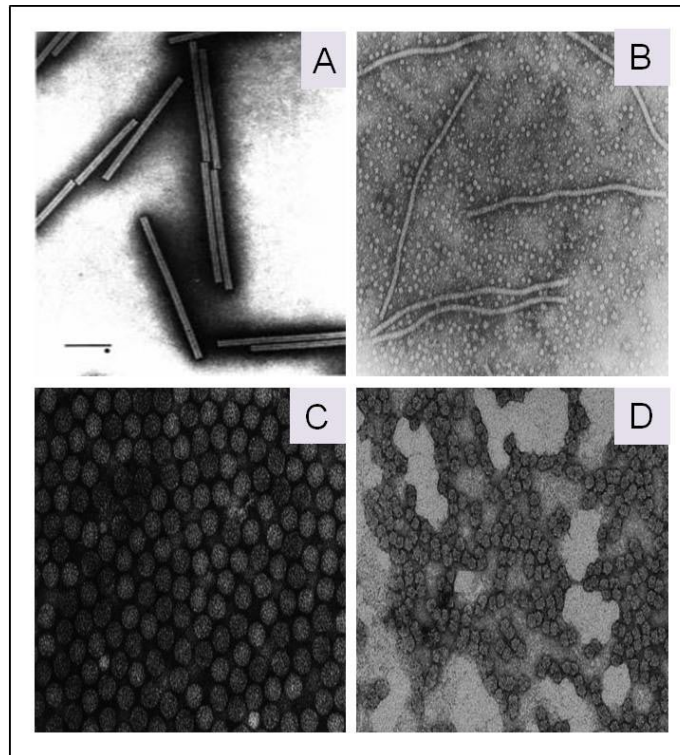


Figura 1. Estructura de diferentes virus vegetales. Microscopía electrónica de estructuras de cápside de A) Virus del mosaico de tabaco, B) Virus X de la papa, C) Cucumovirus y D) Geminivirus.

Transmisión de los virus en plantas

Los virus pueden transmitirse de diferentes maneras. Las formas más comunes son:

- Inoculación mecánica: esta es la manera más frecuente por la cual los virus se diseminan. A campo se da por el roce directo entre planta y planta o por el contacto entre la savia de una planta enferma y la de una planta sana. También ocurre por distintas prácticas agrícolas, tales como el uso de maquinarias o herramientas contaminadas.

- Insectos: a los insectos que transmiten virus de plantas se los denomina "vectores". Entre los vectores más comunes se encuentran varias especies de ácaros, nematodos, bacterias y ciertos hongos habitantes del suelo.

- Propagación vegetativa (ver Cuadernos nº 35, 56): los virus que infectan una planta madre, a partir de la cual se toman tubérculos, brotes u otras porciones de tejido con fines de propagación o para técnicas de cultivo in vitro, casi siempre son transmitidos a la descendencia.

- Semilla o polen (ver Cuaderno nº 109): los virus que permanecen en el material vivo, como las semillas o el polen, pueden propagarse de generación en generación. En general, cuando un virus es transmitido por granos de polen, infecta tanto a la planta que está polinizando, como también a la futura planta que nacerá de dicha polinización. Este tipo de transmisión es muy común entre los árboles de frutas, como por ejemplo los cerezos. Por otro lado, la diseminación de los virus por medio de semillas incrementa significativamente la severidad de la infección, ya que el virus ataca a la planta en sus primeros estadios de desarrollo e impide que crezca normalmente.

Mecanismos de infección

El ciclo viral se inicia al penetrar el virus en la célula hospedadora. Una vez dentro del citoplasma (ver Cuaderno nº 80), el virus se desensambla y comienza la replicación de su genoma, la traducción de sus proteínas y su movilización. Para llevar a cabo estos procesos, los virus deben interactuar con proteínas de la célula hospedadora.

Replicación y traducción: el mecanismo de replicación varía dependiendo del tipo de genoma viral. En todos los casos, los virus utilizan la maquinaria de replicación de la célula hospedadora. El mecanismo más común y más estudiado corresponde al de los virus con un genoma de ARN. Estos virus, además de las proteínas de la célula, utilizan una enzima que es codificada por ellos mismos y que es necesaria e indispensable para su proceso de replicación. Esta enzima se la denomina ARN polimerasa ARN dependiente. Esta enzima se caracteriza por sintetizar, a partir de moléculas de ARN ya preexistentes, nuevas cadenas de ARN que formaran parte de los nuevos virus.

Otro proceso importante en el ciclo de infección es la traducción de las proteínas del virus. Producto de este proceso, se obtienen las proteínas de la cápside, las replicasas (actúan en la replicación), las proteínas de movimiento (involucradas en el movimiento célula a célula) y proteínas específicas para el establecimiento de la infección. Al igual

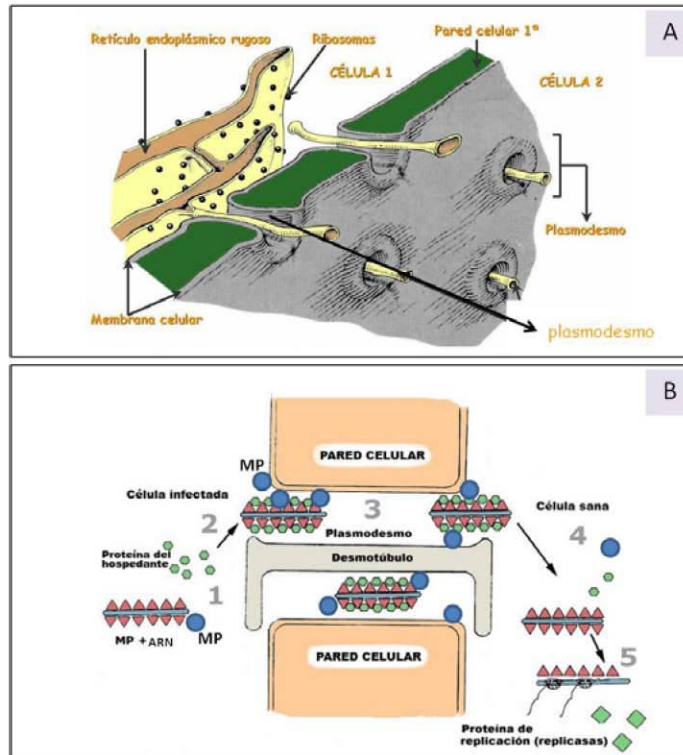
que en la replicación, el virus utiliza la maquinaria de la célula infectada para llevar a cabo este proceso.

Movimiento local y sistémico: para establecer una infección exitosa un virus debe moverse localmente (célula a célula) y sistémicamente (a través de los vasos conductores de la planta). Estos mecanismos también son procesos complejos que involucran la participación e interacción de proteínas virales y de proteínas de la planta. El movimiento local ocurre en los primeros estadios de infección y se produce a través de los plasmodesmos. Los plasmodesmos son canales que atraviesan la pared celular uniendo los citoplasmas de dos células adyacentes y facilitando la comunicación intercelular (ver figura 2A). Este movimiento se encuentra regulado por proteínas virales denominadas proteínas de movimiento (MP) que se unen al genoma viral y lo transportan de célula a célula (ver figura 2B). El complejo entre las MP y el genoma viral puede pasar a través de las células, ya que estas proteínas de movimiento (MPs) tienen la capacidad de aumentar el tamaño de apertura de los plasmodesmos. Sin embargo, se cree que la mayoría de la maquinaria para la movilización local está provista por la célula hospedadora. Una de estas maquinarias corresponde al conjunto de filamentos y microtúbulos que conforman el citoesqueleto. Otra maquinaria celular que participa en el movimiento viral célula a célula es el sistema de transporte de endomembranas. Muchas MPs son destinadas a los plasmodesmos vía el retículo endoplasmático (ver Cuaderno n° 80).

Fig. 2: Estructura del plasmodesmo y movilización local. A) Esquema de la estructura del plasmodesmo. B) Representación de la movilización de los virus a través de los plasmodesmos.
Fuente: A) Mara Magenta B) Vickie Brewster.

Por otra parte, se encuentra el movimiento sistémico que se produce a través del floema. El floema es el sistema de vasos conductores de las plantas vasculares que se encarga de transportar todo tipo de nutrientes. Muchos tipos de virus necesitan de su cápside viral para el movimiento a través del sistema vascular. Este movimiento a larga distancia permite la diseminación de los virus por toda la planta.

Interacción virus-planta



A más de medio siglo del primer aislamiento de un virus vegetal, se ha logrado conocer parcialmente la compleja interacción entre las plantas hospederas y los virus. Poco se sabe de los mecanismos moleculares y celulares por los cuales los virus infectan a las plantas y generan síntomas en las mismas.

Cuando un virus infecta una planta, se pueden generar dos tipos de reacciones (ver Cuaderno N° 93):

Reacción incompatible: son las respuestas en las cuáles no hay enfermedad porque se da un fenómeno de resistencia por parte de la planta. Las plantas cuentan con mecanismos específicos que reconocen y evitan la acción de estos agentes patogénicos. Algunos de estos mecanismos y estrategias de defensa se basan en aminorar o contrarrestar la acción de los virus. Los mecanismos de defensa más comunes inducidos como consecuencia del reconocimiento virus-planta son:

Presencia de barreras físicas y químicas: una de las barreras más importantes es la que se forma por el depósito de calosa en los plasmodesmos. La calosa es un polisacárido que se sintetiza rápidamente frente al ataque de un virus y se deposita en los plasmodesmos para cerrarlos y evitar la diseminación viral a otras células vecinas.

Respuesta hipersensible: es la rápida activación de las reacciones de defensa asociadas a la muerte celular programada en la célula huésped. Se manifiesta en la planta con la aparición de lesiones locales necróticas en el sitio mismo de infección. La reacción hipersensible está asociada a la expresión simultánea o paralela de otros mecanismos de defensa que incluyen la acumulación de fitoalexinas (metabolitos secundarios que inhiben a los patógenos), deposición de lignina, polímero presente en las paredes celulares de las plantas que actúa como barrera, y de proteínas ricas en hidroxiprolina (proteínas que inducen la polimerización de la lignina). La respuesta hipersensible junto con estos mecanismos evitan el acceso del virus a otras células vivas e impide que progrese la infección.

Silenciamiento génico post-transcripcional: (ver cuaderno N° 115) es un mecanismo inducido por la presencia de genomas virales del tipo ARN. Como respuesta se promueve la degradación del ARN viral. Se induce principalmente porque la mayoría de los virus que tienen este tipo de genoma, cuando se replican, pasan por un estadio de ARN doble cadena. El ARN doble cadenas es la molécula que es reconocida y la que gatilla este mecanismo. Además, puede ser promovido por una cantidad elevada de ARN mensajeros (ARNm) producto de la transcripción de los genes virales.

Reacción compatible: es la respuesta que se desarrolla cuando un patógeno logra infectar y enfermar a una planta. Ocurre si las condiciones ambientales son favorables, si las defensas preformadas de la planta son inadecuadas o insuficientes, si el reconocimiento del virus no se lleva a cabo, o incluso si las respuestas de defensa no logran activarse correctamente. En una reacción compatible, la capacidad que tiene el virus de invadir la planta radica en la formación de complejos entre proteínas virales y proteínas de la célula hospedadora que permiten y promueven la replicación y la diseminación del virus.

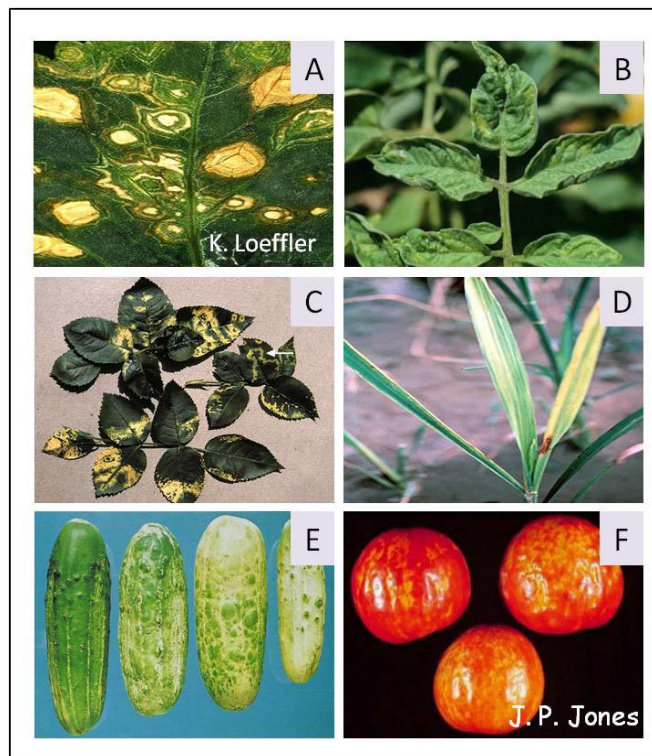
Cuando el virus logra sobrepasar todos los sistemas de defensa y se establece una interacción compatible, comienzan a producirse cambios fisiológicos en la planta que promueven la aparición de síntomas y el desarrollo de la enfermedad. Los síntomas que se producen varían notablemente de acuerdo al tipo de virus y al tipo de planta (ver figura 3). Las alteraciones fisiológicas más comunes son: disminución de la fotosíntesis, aumento de la respiración celular, acumulación de compuestos

nitrogenados, aumento de las actividades oxidativas, alteración en el metabolismo de hormonas vegetales y disminución de los nutrientes necesarios para la planta.

Figura 3. Sintomatología viral. A) Anillos cloróticos (manchas circulares formadas por anillos concéntricos de tejido necrótico) por infección con el Virus del mosaico del pepino (CMV) B)

Malformaciones de hojas de tabaco por infección con TMV C) Clorosis (alteración en la síntesis de clorofila) de hojas de un rosal por infección con el Virus del mosaico de la rosa D) Clorosis de hojas E) Pepinos infectados con CMV F) Coloración anormal de tomate debido a la infección

(Ver Cuadernos n° 106, 107). Se ha estudiado que la infección de manifiesta en forma de enrollamientos de las hojas infectadas se debe a la alteración en la producción y metabolismo de ciertas hormonas vegetales (auxinas, citoquinas, etileno, etc.). Por otro lado, se ha visto que ciertas proteínas virales pueden causar anomalías en la morfología vegetal debido a que alteran la acumulación de ciertos ARN pequeños endógenos. Estos ARN pequeños regulan los niveles de ARNm específicos involucrados en el desarrollo de la planta. También, se ha determinado que la presencia de hojas con clorosis y amarillentas producto de la alteración en la síntesis de clorofila produce una disminución en la actividad fotosintética en las plantas infectadas (ver Cuadernos n° 106, 107). Finalmente, se ha observado que la alteración en la localización y el transporte de ciertos nutrientes (carbohidratos) y de algunas proteínas se debe a la presencia de MPs que alteran la permeabilidad y el tamaño de exclusión de los plasmodesmos.



Bioteología y resistencia a virus

En la actualidad, no existe ningún método de control capaz de impedir el ataque de los virus a especies cultivables. Una de las estrategias más utilizadas es el uso de insecticidas u otros productos químicos para controlar los insectos que transmiten a los virus de una planta a otra. Otra de las maneras de impedir la diseminación de los virus a campo es mediante la siembra de semillas certificadas "libre de virus". Estas semillas se obtienen de plantas que se generan in vitro a partir de meristemas apicales (ver Cuaderno nº 35). Por lo general, los meristemas apicales son la única parte de la planta donde los virus no llegan ya que no poseen sistema vascular. Por último, se encuentran los métodos de control que se basan en las técnicas tradicionales de cruzamiento (ver Cuaderno nº5) donde se trata de introducir la resistencia de las especies silvestres a los cultivos comerciales.

Como se dijo anteriormente, los virus vegetales son patógenos responsables de numerosas enfermedades que producen importantes pérdidas económicas alrededor del mundo (unos U\$S 60 mil millones por año). Debido a la falta de un control eficaz y a las grandes pérdidas que producen, ha habido un importante interés en los últimos años en profundizar el conocimiento sobre las infecciones virales.

Gracias al avance de la bioteología moderna y a estos nuevos conocimientos, se ha podido desarrollar numerosas estrategias de protección antiviral mediante técnicas de ingeniería genética (ver Cuaderno nº 2, 4, 67). Entre las estrategias de resistencia más conocidas se encuentran la resistencia derivada del patógeno (siglas en inglés PDR) y la resistencia derivada de transgenes no virales.

Resistencia derivada del patógeno:

El concepto de PDR fue concebido hace más de un cuarto de siglo (1985) por John Sandford y Stephen A. Johnston, ambos genetistas de plantas, en Estados Unidos. Este concepto describe el uso de material genético (secuencias codificantes y no codificantes) del propio virus para generar resistencia por ingeniería genética en plantas susceptibles. La idea de este concepto reside en expresar funciones del virus

en una planta hospedadora, de forma tal que estas funciones ocurran en forma disfuncional, en exceso o en un momento inadecuado del ciclo viral. La resistencia derivada del patógeno puede estar mediada por la expresión de proteínas virales o por ARN viral.

El concepto de PDR mediada por proteínas virales fue validado en 1986 cuando se desarrolló una planta transgénica de tabaco a la cual se le introdujo, por técnicas de ingeniería genética, el gen que codifica la cápside viral del Virus del mosaico del tabaco (TMV). Algunas de estas plantas presentaban un retraso en la infección, mientras que otras desarrollaron una resistencia total frente a TMV. Se cree que la expresión de la cápside viral en estas plantas actuaba a nivel celular afectando el desensamblado del virus. Los virus cuando penetran en la célula hospedadora deben desensamblarse (desarmar su cápside proteica) para que su genoma pueda replicarse y producir las proteínas virales necesarias para desarrollar la infección. Para que este proceso se lleve a cabo es necesaria una interacción específica entre las proteínas de la cápside y de ciertos factores de la planta hospedadora. Si la planta transgénica ya expresaba endógenamente la cápside de TMV, cuando el virus infectaba a la célula, éste no podía desensamblarse ya que estos factores se encontraban interaccionando previamente con las cápsides preexistentes.

Como consecuencia de este descubrimiento, se desarrollaron numerosas plantas transgénicas resistentes a diferentes tipos de virus mediante la expresión de sus cápsides virales. También hubo otros trabajos donde se expresaron otras proteínas virales de TMV (la replicasa y la proteína de movimiento) y se obtuvieron similares resultados.

En algunos casos no se requiere la presencia de una proteína viral para conferir resistencia, sino que la sola expresión de un ARN complementario (antisentido) a un gen derivado de un virus es suficiente para retrasar o impedir la infección. Esto se produce debido a la inducción del silenciamiento génico post-transcripcional (en inglés PTGS) (ver Cuaderno nº 115). La secuencia del ARN antisentido que se expresa en la planta es complementaria a alguna secuencia del genoma del virus. Cuando el virus entra a la célula, el ARN antisentido se apareja por complementariedad de bases con su secuencia viral correspondiente y genera un ARN doble cadena. Esta estructura es reconocida por la maquinaria del PTGS y gatilla la degradación del genoma del virus.

Resistencia derivada de transgenes no virales:

Otra manera de generar resistencia al ataque de virus es mediante la expresión de transgenes no virales. Una de las estrategias más utilizadas es la expresión en plantas susceptibles de los genes R (ver Cuaderno N°93). Estos genes codifican proteínas que participan en el reconocimiento de los virus y desencadenan respuestas incompatibles (en especial respuestas del tipo hipersensibles). Mediante ingeniería genética se ha podido desarrollar plantas transgénicas que expresan dichos genes y generan resistencia frente al ataque de virus. El descubrimiento e identificación del gen Rx en plantas de papas resistentes al Virus X de la papa (PVX), permitió insertar y expresar dicho gen en plantas de tabaco susceptibles a la infección por PVX. De esta manera, se logró desarrollar plantas de tabaco resistentes a PVX mediante la expresión de un gen de resistencia de plantas de papa.

Aparte de los genes R, se ha demostrado que la expresión de anticuerpos de cadena única puede también conferir resistencia frente al ataque de ciertos virus. La idea es que los anticuerpos elegidos reconozcan y bloqueen alguna proteína viral, de tal manera de impedir un paso crucial en el ciclo de infección del virus.

Cultivos transgénicos actuales resistentes a virus

En la actualidad, se encuentran aprobados para comercialización unos pocos cultivos transgénicos resistentes a virus. El primer cultivo aprobado fue la calabaza resistente al Virus del mosaico amarillo de la calabaza (ZYMV) y al Virus del mosaico de la sandía (WMV). Esta calabaza expresa la cápside viral de ambos virus y fue autorizada para su cultivo comercial en Estados Unidos en 1994. Otro ejemplo muy importante de cultivo transgénico resistente a virus, es el caso de la papaya. En 1998, en Hawaii, se aprobó una papaya resistente al Virus de la mancha anular de la papaya que expresaba la cápside viral de este virus. Esta papaya transgénica fue rápidamente adoptada en los años subsiguientes por la mayoría de los productores. En el año 2006 más del 90% de la superficie plantada correspondía a papaya genéticamente modificada. Por último, en China se ha aprobado recientemente el cultivo comercial de tomate, pimiento y papaya resistentes a Virus.

Actualmente, se sigue trabajando a nivel mundial para generar nuevos cultivos resistentes a virus.

CONSIDERACIONES METODOLÓGICAS

El Cuaderno nº 121 referido a las infecciones en las plantas resulta novedoso e interesante para trabajar en el aula, no sólo por las posibilidades que ofrece la biotecnología para prevenir o contrarrestar estos ataques de patógenos, sino por el hecho mismo de considerar que "las plantas se enferman".

En la escuela se suele trabajar el concepto de salud y enfermedad, y la prevención, ligada generalmente al ser humano, y a los microorganismos que lo afectan. Sin embargo, se conoce menos acerca de aquellos factores que afectan la salud de las plantas, y las situaciones de estrés que sufren las plantas debido a cambios en el entorno (luz, humedad, presión, oxígeno) y ante los cuales reaccionan, y pueden sobrevivir o morir.

Teniendo en cuenta esta introducción se sugiere a los docentes, en los diferentes niveles y modalidades, incorporar en sus clases los siguientes contenidos vinculados a este Cuaderno:

- Al igual que el resto de los seres vivos, las plantas se enferman, y existen diferentes microorganismos que pueden afectarlas. Es decir que el concepto de salud, vinculado al bienestar y a la capacidad de realizar las actividades cotidianas, se aplica también a las plantas y sus funciones. En este sentido se puede vincular también con la función de las plantas como productoras de materia orgánica en el primer eslabón de las redes tróficas, y los efectos que puede generar la enfermedad de las plantas en el funcionamiento de un ecosistema. Es decir, cómo al verse afectado un componente, el sistema en su totalidad puede fallar en su funcionamiento (concepto de "sistema").
- Entre los factores que afectan a las plantas están, como en otros organismos, factores biológicos, como los microorganismos, factores químicos, como sustancias tóxicas que hay en el entorno, y factores físicos, como radiaciones excesivas y/o dañinas.
- Otro aspecto que vincula a las plantas con el resto de los seres vivos, y que permite aplicar los conceptos de este Cuaderno, es el hecho que las plantas, como todo ser vivo, tiene mecanismos de defensas naturales frente a los patógenos. Es decir que las plantas cuentan con mecanismos internos (al igual que un sistema inmunológico en los seres humanos) que reconoce y evita la acción de estos agentes patogénicos. Algunos de estos mecanismos y estrategias de defensa se basan en aminorar o contrarrestar la acción de los virus, del mismo modo que los glóbulos blancos reconocen y eliminan a los agentes extraños que ingresan en la sangre.
- Relacionado con el concepto anterior, se puede incorporar en el aula una comparación entre los beneficios que aporta la biotecnología para la salud humana generando vacunas recombinantes (ver Cuaderno nº 21, 71, 74) con los aportes que la ingeniería genética aporta a prevención de enfermedades en las plantas.

- Por último, para comprender los conceptos vinculados con el efecto de las infecciones virales, ya sea en plantas, como en humanos y en otros animales, es importante trabajar en clase la idea de "qué son los virus". Esto se puede incorporar al abordar las temáticas de "los seres vivos y sus características". La idea no es llegar a una conclusión en cuanto a si los virus son seres vivos o no, ya que la ciencia apenas puede resolver esa controversia, sino comprender por qué las infecciones virales representan una complicación adicional, en comparación con infecciones bacterianas. En primer lugar, en cuanto a las características de los virus y su clasificación en el mundo de los seres vivos, la controversia se origina ya que la capacidad de reproducirse y de vivir de forma independiente, dos de las características que definen el concepto de "vida", no se encuentran en los virus. Los virus no pueden reproducirse por sí mismos, ni vivir de forma independiente, sino que necesitan alojarse dentro de otra célula, de otro ser vivo, para lograr multiplicarse y expandirse. En este proceso, hacen uso de la maquinaria de replicación y de síntesis de proteínas de la célula hospedadora. Esto implica, en cuanto a las defensas del organismo que, en general, eliminar un virus implica eliminar las células donde se aloja. En algunas ocasiones, incluso, el virus inserta su material genético en el de la célula hospedadora, lo que les permite a los virus pasar inadvertidos y en estado latente durante mucho tiempo, incluso años. Comprender este modo de actuar de los virus, ya sea en las plantas como en el ser humano (por ejemplo al estudiar la acción del VIH, causante del sida), permite tomar dimensión de la complejidad de las acciones contra este tipo de patógenos y, a su vez, tomar conciencia de los aportes que puede hacer la biotecnología al generar mecanismos preventivos eficaces.

En el caso de las plantas en particular, la ingeniería genética y la transgénesis, tal como se explica en el Cuaderno, permiten complementar otros métodos tradicionales como la generación in vitro de semillas libres de virus, o el uso de agroquímicos e insecticidas.

ACTIVIDADES

Actividad 1. Repaso de conceptos

El objetivo de esta actividad es repasar los conceptos básicos trabajados en el texto. Completar la siguiente grilla:

_____	V	
_____	I	_____
_____	R	_____
_____	U	_____
_____	S	_____
	P	_____
_____	L	_____
_____	A	_____
_____	N	_____
_____	T	_____
_____	A	_____

Primer virus vegetal identificado y aislado (las siglas).

Proteína que forma parte de la cubierta proteica que contiene al genoma viral. Una de las primeras proteínas usadas para la resistencia derivada del patógeno.

Tipo de genoma viral.

Proteínas humanas que se han usado para desarrollar plantas transgénicas utilizando la estrategia derivada de transgenes no virales.

Respuesta de una planta en una reacción incompatible.

Forma de transmisión de virus a otras plantas.

Primer cultivo transgénico resistente a virus aprobado en el mundo.

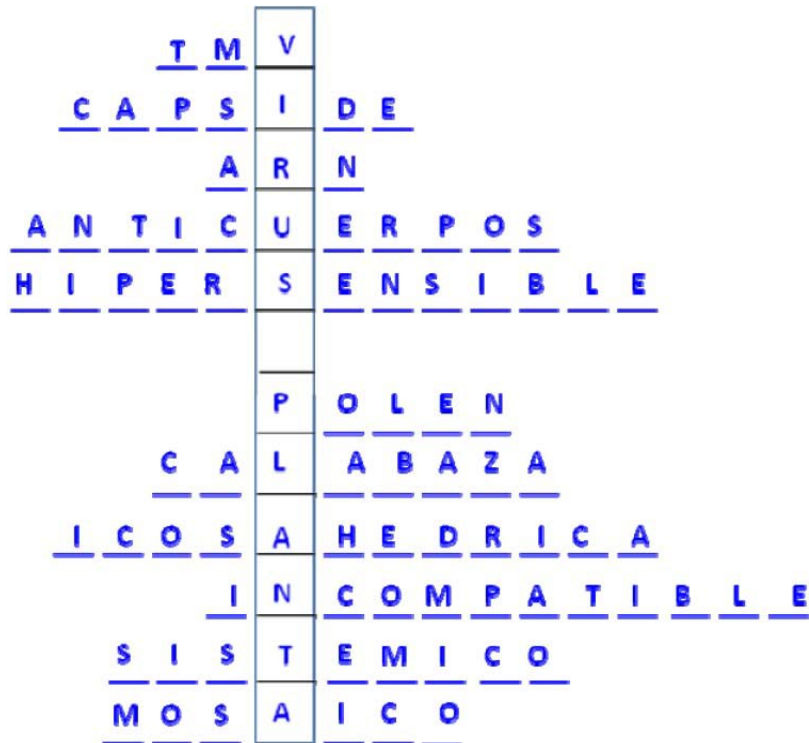
Forma de la cubierta proteica de algunos virus vegetales.

Tipo de reacción de las plantas frente al ataque de los virus. En este tipo de respuestas no hay enfermedad.

Tipo de movimiento viral a través del floema que le permite a los virus infectar toda la planta.

Tipo de síntoma que generan en las hojas las plantas infectadas por TMV.

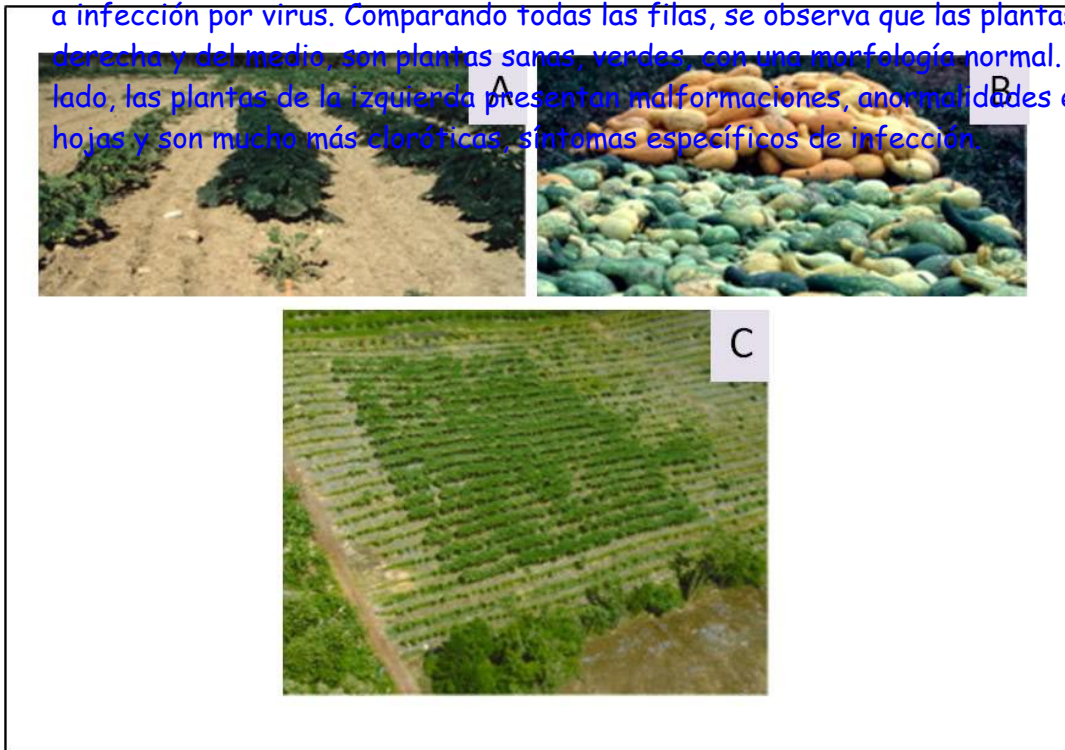
Respuestas



Actividad 2. Interpretación de resultados: ensayo a campo.

Observar las siguientes fotografías. En la foto A se muestran plantas de calabaza crecidas a campo. En la foto B, se observan calabazas que ya fueron cosechadas. Finalmente en la fotografía C, se muestra un campo en Hawaii de papaya.

Fotografía A: la fila del medio y de la derecha corresponden a plantas de calabaza transgénicas. La fila de la izquierda corresponde a plantas de calabaza susceptible a infección por virus. Comparando todas las filas, se observa que las plantas de la derecha y del medio, son plantas sanas, verdes, con una morfología normal. Por otro lado, las plantas de la izquierda presentan malformaciones, anomalías en las hojas y son mucho más cloróticas, síntomas específicos de infección.



- . Determinar en cada fotografía qué plantas son resistentes al ataque de virus. Justificar su respuesta en base a lo observado.
- . En base a lo leído, ¿a qué virus son resistentes estas plantas de calabaza y papaya?
- . En ambos casos, ¿qué estrategia de resistencia se utilizaron y qué gen/genes se les introdujeron a cada planta?

Respuestas

Fotografía B: Las calabazas del frente son las no transgénicas y las de atrás son las que fueron genéticamente modificadas para resistir el ataque de virus. Como se observa, las calabazas transgénicas poseen la coloración típica (naranja claro) de una calabaza convencional, mientras que las no transgénicas tienen un color azulaceo producto de la infección.

Fotografía C: El cuadrado interior del campo corresponde a plantas de papaya genéticamente modificadas resistentes a virus, mientras que las filas de plantas que rodean a ese cuadrado corresponden a plantas susceptibles. Como se observa a partir de esta fotografía aérea, las plantas de papaya del centro del campo, son grandes, verdes y se encuentran bien desarrolladas. En cambio, las plantas que bordean a ese cuadrado central son más pequeñas, se encuentran menos desarrolladas y presentan una coloración más clorótica.

Las plantas de calabaza son resistentes a dos tipos de virus: al Virus del mosaico amarillo de la calabaza (ZYMV) y al Virus del mosaico de la sandía (WMV). Las plantas de papaya fueron genéticamente modificadas para resistir al ataque del Virus de la mancha anular de la papaya (PRSV).

En ambos casos se utilizó la estrategia de resistencia derivada del patógeno (PDR). En el caso de la calabaza, los genes introducidos correspondían a las cápsides virales de ambos virus. Para el caso de la papaya, se le introdujo el gen que codifica la cápside del virus PRSV.

Actividad 3. Análisis de texto

Leer y analizar el texto publicado el 04/06/2009 en la Sección Novedades del sitio de ArgenBio www.argenbio.org . Luego responder a las siguientes preguntas.

“Científicos filipinos desarrollan batata resistente a virus”

<http://www.argenbio.org/index.php?action=notas¬e=4723>

Filipinas espera poder contar en cinco años con variedades de batata (papa dulce o camote) genéticamente modificadas para resistir al ataque del virus del moteado plumoso (Sweet Potato Feathery Mottle Virus).

Científicos de la Universidad del Estado de Visayas y del Instituto de Mejoramiento Vegetal (UPLB-IPB) de la Universidad de Los Baños, están trabajando en el desarrollo de plantas de batata resistentes al virus a través de la modificación genética mediada por bacteria en Agrobacterium en Filipinas, con más de 120.500 hectáreas destinadas a su cultivo. Y de los 15 virus conocidos que atacan al cultivo, 8 pueden encontrarse en Filipinas. Entre estos virus, el más importante es el virus del moteado plumoso (SPFMV), asociado con el rizado de la hoja, enfermedad conocida en Filipinas como “Kamote Kulot”. Según Manuel Palomar, líder del proyecto, “los informes indican que este virus reduce los rendimientos del cultivo de batata entre un 40 y un 60% en Leyte y entre un 85% y un 96% en Adobo”. El investigador explica que la resistencia al virus puede lograrse a través de la transferencia del gen de la proteína de la cubierta del SPFMV a las variedades locales de batata. “Por ahora estamos armando las construcciones genéticas y estandarizando los procesos de transformación y cultivo celular. Esperamos poder iniciar los ensayos a campo en 2011,” explicó Lolita Dolores, viróloga y parte del proyecto. El proyecto está financiado por el Servicio Internacional para las Adquisiciones de las Aplicaciones Agrobiotecnológicas (ISAAA) y el Departamento de Ciencia y Tecnología del Consejo Filipino para la Investigación y el Desarrollo de la Agricultura, la Silvicultura y los Recursos Naturales (DOST-PCARRD).

Responder las siguientes preguntas:

- . ¿Cuál fue el desarrollo de los autores del trabajo?
- . ¿Qué ventajas tienen las batatas transgénicas obtenidas en este trabajo respecto de las batatas no transgénicas?
- . ¿Qué estrategia de resistencia utilizaron? Explicar.
- . ¿Qué gen se le introdujo y por qué le confiere resistencia frente a SPFMV?

Respuestas

a) Desarrollaron una batata (papa dulce o camote) genéticamente modificada resistente al ataque del virus del moteado plumoso (SPFMV).

b) La ventaja es que estas papas genéticamente modificadas resisten al ataque de este virus y evitan la disminución en el rendimiento de este cultivo.

c) La estrategia de resistencia utilizada fue la resistencia derivada del patógeno (PDR). Esta estrategia se basa en el uso de material genético del propio virus para generar resistencia por ingeniería genética. Esta estrategia se basa en expresar proteínas o ARNs virales que evitan o bloquean ciertas funciones virales.

d) Se le introdujo a las batatas el gen correspondiente a la proteína de la cápside (cubierta) del SPFMV. La expresión de esta proteína en las batatas transgénicas le confiere resistencia frente a este virus ya que bloquearía la decapsidación del mismo impidiendo que comience su ciclo de infección.

Actividad 4. Actividad de investigación

La siguiente actividad tiene como objetivo realizar una tarea de investigación sobre el virus que provoca el Mal de Río Cuarto (MRC).

A través de esta actividad, se busca aprender a realizar una búsqueda de información en Internet. Esta es una práctica fundamental para el trabajo en el aula ya que enseña a identificar y seleccionar, de entre la enorme diversidad de información que abunda en la red, cuáles son aquellos sitios que resultan confiables. La confiabilidad de un sitio se basa en información avalada científicamente y respaldada por institutos u organizaciones especializadas en el tema que se investiga.

Palabras clave para la búsqueda en Internet: virus del Mal de Río Cuarto, INTA Castelar, Bioceres, biotecnología, Dalia Lewi, Mariana del Vas.

Responder el siguiente cuestionario:

- a) ¿Qué es el Mal de Río Cuarto? ¿Cuál es su importancia en nuestro país?
- b) ¿En qué zonas de nuestro país es endémica esta enfermedad?
- c) ¿Qué tipo de genoma y qué estructura de cápside tiene este virus?
- d) ¿Cómo se transmite el virus?
- e) ¿Cuáles son los síntomas que presentan las plantas de maíz infectadas?
- f) ¿Qué proyectos biotecnológicos se están desarrollando en nuestro país para evitar o combatir esta enfermedad? ¿Actualmente se cultiva comercialmente este maíz transgénico?

Respuestas

a) El Mal de Río Cuarto es la principal enfermedad que afecta al cultivo de maíz en la Argentina y es causada por un virus (virus del Mal de Río Cuarto, MRCV) y sólo existe en nuestro país. Esta enfermedad es clave en la Argentina ya que es la responsable de importantes pérdidas económicas en los cultivos de maíz debido a la severidad de los

síntomas que produce. En la campaña 1996/97, la enfermedad afectó en gran escala a las principales regiones productoras de maíz de la Argentina. Muchas zonas sufrieron la pérdida total de la producción de granos. También es importante porque puede afectar otros cultivos tales como la avena, el sorgo, el trigo, el mijo, la cebada y el centeno.

b) Las zonas endémicas comprenden el sur de Córdoba, noreste de San Luis, oeste de Buenos Aires y norte de La Pampa.

c) El virus del Mal de Río Cuarto presenta un genoma de ARN (10 segmentos) y la estructura de la cápside tiene forma icosaédrica.

d) Este virus es transmitido por el vector *Delphacodes kuscheli*. Este insecto es una chicharrita que transmite al virus de manera persistente y propagativa, es decir que el virus se multiplica dentro del insecto, y este vector lo transmite durante toda su vida.

e) La sintomatología que presentan las plantas infectadas son: acortamiento de los entrenudos y altura reducida, malformación de hojas, raíces reducidas, espigas numerosas, deformes y estériles, mazorcas con escasa formación de granos y enaciones (engrosamientos rugosos) en las nervaduras en el envés de las hojas.

f) Uno de los proyectos que se desarrolló fue la obtención de plantas transgénicas de maíz que expresen moléculas (ARN) derivadas del virus MRCV, en base al concepto de "resistencia derivada del patógeno". Esta estrategia confiere a la planta la capacidad de resistir la infección por parte de este virus debido a la inducción del silenciamiento génico post-transcripcional (PTGS). Este proyecto fue llevado a cabo entre la empresa Bioceres S.A. y el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).

Actualmente no se cultiva comercialmente este maíz, aún no ha sido autorizado y se encuentra en fase de experimentación.

MATERIAL DE CONSULTA

1. Interacción planta-virus durante el proceso infeccioso. C. Stange. Año 2006. Revista Ciencia Agraria. Páginas 1 a 20. Idioma español.

2. Resistencia a virus. Materia Agrobiotecnología. FCEN-UBA. Idioma español.
<http://www.fbmc.fcen.uba.ar/fbmcespanol.html>

3. Introducción a los Virus Vegetales, el Enemigo Invisible. Idioma español.

<http://www.apsnet.org/education/introplantpath/PathogenGroups/PlantVirusEspanol/default.htm>

4. Una Introducción Multilingüe Ilustrada a Los Patógenos y Enfermedades de Plantas. Documento publicado en el sitio Education Center. Programa perteneciente a la American Phytopathological Society. Idioma español.

www.apsnet.org/education/Mlingual/Spanish/9Cs.rtf

5. Toward a quarter century of pathogen-derived resistance and practical approaches to plant virus disease control. Gottula J y Fuchs M. Año 2009. Revista Advances Virus Research, volumen 75, páginas 161 a 183. Idioma inglés.

6. <http://www.dpvweb.net/index.php>. Sitio web: Descriptions of Plant Viruses. Base de datos sobre virus vegetales. Base de datos financiada por la Association of Applied Biologists y la Academia de Ciencias Agrarias de Zhejiang, China. Idioma inglés.

7. The tobacco mosaic virus particle: structure and assembly. A Klug. Año 1999. Philosophical Transactions of the Royal Society, volumen 354, páginas 531 a 535. Idioma Inglés.

8. Aggie Horticulture. Sitio web con información sobre producción de cultivos y jardinería. <http://aggie-horticulture.tamu.edu/> Idioma Inglés.

9. Master Gardener Training. Sitio web de información sobre enfermedades de plantas. Este programa pertenece al Departamento de Patología Vegetal de la Universidad de Wisconsin - Madison. Idioma Inglés.

<http://www.plantpath.wisc.edu/PDDCEducation/EducationIndex.htm>