

VOLUNTARIADO DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL PARA LA IDENTIFICACIÓN DE VIRUS DE PLANTAS EN LAS ISLAS GALÁPAGOS

por ESTHER ÁLVAREZ SÁNCHEZ¹, DANIEL DÍAZ RUIZ¹, ROCÍO ESPAÑA BONILLA¹, LAURA RAMOS ZAFRA¹, PATRICIO A. VEGA-MARIÑO², EDGARD ALBERTO VÉLEZ PINELA², MARILYN

CRUZ BEDÓN², ENRIQUE VIGUERA MÍNGUEZ¹ Y ANA GRANDE PÉREZ¹

¹ÁREA DE GENÉTICA, FACULTAD DE CIENCIAS, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA, MÁLAGA, ESPAÑA

²AGENCIA DE REGULACIÓN Y CONTROL DE LA BIOSEGURIDAD Y CUARENTENA PARA GALÁPAGOS, GALÁPAGOS, ECUADOR)

ESTHER.ALVA.SAN@GMAIL.COM, DDIAZRUIZ1997@GMAIL.COM, ROCIOBONILLA99@GMAIL.COM, LAURA99RZ@GMAIL.COM,

PATRICIO.VEGA@ABGALAPAGOS.GOB.EC, ALBERTO.VELEZ@ABGALAPAGOS.GOB.EC, MARILYN.CRUZ@ABGALAPAGOS.GOB.EC,

VIGUERA@UMA.ES, AGRANDE@UMA.ES

Palabras clave: Cooperación Internacional, conservación, islas Galápagos, begomovirus, mosca blanca.

Keywords: International Cooperation, conservation, Galapagos Islands, begomovirus, whitefly.

Resumen: Entre junio y septiembre de 2022 se desarrolló un trabajo de voluntariado en cooperación internacional con la *Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos* (ABG), en las islas Galápagos, Ecuador. ABG es la autoridad que controla la bioseguridad, la cuarentena, la sanidad animal y vegetal, así como la protección de los ecosistemas insulares y marinos de las islas Galápagos. El objetivo del proyecto fue generar conocimiento sobre los virus presentes en cultivos tradicionales y en especies naturales de las zonas de transición entre las zonas agropecuarias y las zonas protegidas del Parque Nacional Galápagos, contribuyendo a la protección del ambiente y al uso sostenible de los recursos naturales del archipiélago de Galápagos. Los virus de ADN circular de cadena sencilla (ssDNA) causan graves pérdidas en muchos países de zonas templadas con una economía basada en la agricultura. Éstos pueden evolucionar causando enfermedades nuevas o más agresivas en los cultivos o en plantas de gran valor ecológico. Los voluntarios muestrearon en la isla Santa Cruz cultivos de interés como tomate, calabacín, pimiento y papaya, así como malezas y ejemplares de mosca blanca. Mediante técnicas de amplificación de círculo rodante y PCR específica para la detección de begomovirus se obtuvo amplificación de ADN en algunos cultivos, pero principalmente en malezas que, de confirmarse mediante secuenciación, sugeriría la presencia de reservorios de virus en estas plantas. Los resultados obtenidos permitirán a la ABG detectar e identificar los virus prevalentes en la isla Santa Cruz y proponer medidas de control adecuadas que representarán un beneficio directo a la población de las Galápagos, con una economía basada en la agricultura sostenible y en el turismo ecológico. La experiencia ha puesto de manifiesto los beneficios de la Cooperación Internacional, no solo la contribución a la investigación y la conservación, sino también en el fomento de oportunidades de desarrollo profesional para los participantes.

Abstract: Between June and September 2022, a volunteer project in International Cooperation with the Agency for Regulation and Control of Biosecurity and Quarantine for Galapagos (ABG), was carried out in the Galapagos islands, Ecuador. ABG is the authority that controls biosecurity, quarantine, animal and human health, as well as the protection of the island and marine ecosystems of the Galapagos Islands. The objective was to generate knowledge about plant viruses prevalent in traditional crops and natural species on the transition zones between agricultural and protected areas of the Galapagos National Park, contributing to environmental protection and the sustainable use of the natural resources of the Galapagos Archipelago. Single-stranded circular DNA (ssDNA) viruses cause serious losses in many temperate countries with an agriculture-based economy. They can evolve to cause new or more aggressive diseases in crops or ecologically valuable plants. Volunteers sampled crops of interest such as tomato, zucchini, bell pepper and papaya, as well as weeds and whitefly specimens on Santa Cruz Island. Using rolling circle amplification and specific PCR techniques for begomovirus detection, DNA amplification was obtained in some crops but mainly in weeds, which, if confirmed by sequencing, would suggest the presence of virus reservoirs in these plants. The results obtained will allow ABG to detect and identify the viruses prevalent in the islands and implement appropriate control measures that will directly benefit the Galapagos population with an economy based on sustainable agriculture and ecotourism. The experience has highlighted the benefits of international cooperation, not only in contributing to research and conservation, but also in promoting professional development opportunities for the participants.

Transformando vidas y ecosistemas: experiencias de Cooperación Internacional en las islas Galápagos.:

El Programa de Cooperación Internacional del Vicerrectorado de Internacionalización de la Universidad de Málaga (UMA) tiene como objetivo la formación y sensibilización del alumnado universitario en proyectos de cooperación internacional y solidaridad. Desde su creación en el año 2011, cientos de alumnos de la UMA han tenido la oportunidad de participar en los proyectos de voluntariado ofertados en diferentes países de Centroamérica, Latinoamérica y Oriente Próximo. En el año 2022, cuatro proyectos diferentes coordinados por profesores de la Facultad de Ciencias de la UMA se desarrollaron en las islas Galápagos (Ecuador), en colaboración con diversas entidades públicas y privadas de las islas. Los proyectos se enfocaron en distintas temáticas, desde la restauración de tortugas gigantes y ecosistemas terrestres, hasta la identificación de virus y especies invasoras en las islas.



Figura 1. Mapa de las islas Galápagos con coordenadas geográficas y localización respecto a la costa continental de Ecuador. El voluntariado tuvo lugar en la isla Santa Cruz, una de las cuatro islas habitadas junto con San Cristóbal, Isabela y Floreana [3]. (Imagen de autor desconocido bajo licencia CC BY-SA).

Las islas Galápagos poseen una flora y fauna endémica única en el mundo: el Parque Nacional Galápagos fue declarado Patrimonio Natural de la Humanidad en 1978, Reserva de la Biosfera de la UNESCO en 1984 y Sitio Ramsar en 2001[1]. Este

archipiélago es, además, conocido por ser el lugar donde el científico Charles Darwin realizó observaciones sobre la adaptación de los pinzones a los recursos y alimentos disponibles en cada isla, y que más tarde le servirían de inspiración para escribir *El origen de las especies* [2].

Desde el año 2014, el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) de Ecuador desarrolla el Plan de Bioagricultura para Galápagos, cuyo objetivo es reducir el volumen de alimentos introducidos desde el continente y motivar la producción agroecológica en las islas. En octubre de 2017 los profesores Ana Grande y Enrique Viguera del Área de Genética de la UMA fueron invitados a participar en el I Taller Internacional Galápagos Verde 2050, organizado por la Dra. Patricia Jaramillo de la Fundación Charles Darwin en Puerto Ayora, isla Santa Cruz. En dicho taller se dialogó, entre varios temas importantes para la conservación del capital natural de las islas Galápagos, sobre virus emergentes de plantas. Los investigadores identificaron como prioritario generar conocimiento y control sobre los potenciales virus de plantas presentes en las islas, para así prever posibles amenazas a la salud de los ecosistemas y de cultivos de gran importancia económica para los habitantes de las cuatro islas habitadas, a saber, Santa Cruz, San Cristóbal, Isabela y Floreana.

El proyecto de cooperación titulado: “Detección e identificación de virus prevalentes en cultivos tradicionales de importancia en la alimentación y en plantas silvestres de gran valor ecológico en las islas Galápagos”, pertenece a la convocatoria de AACID-UMA “Sensibilización y formación de la comunidad universitaria en cooperación internacional para el desarrollo mediante acciones de voluntariado en proyectos en países prioritarios” (2021-2022) de la Junta de Andalucía. El proyecto fue desarrollado por los alumnos Esther Álvarez Sánchez, Daniel Díaz Ruiz, Rocío España Bonilla y Laura Ramos Zafra de la Facultad de Ciencias y como PDI el Dr. Enrique Viguera Mínguez y la Dra. Ana Grande Pérez, investigadora principal del proyecto, y tenía como objetivo generar conocimiento de calidad sobre los virus que pudieran estar presentes tanto en cultivos tradicionales como en especies naturales contribuyendo a la protección del ambiente y al uso sostenible de los recursos naturales del archipiélago.

El proyecto se realizó en colaboración con la Agencia de Regulación y Control de la Bioseguridad y Cuarentena para Galápagos (ABG), institución adscrita al Ministerio del Ambiente de Ecuador, y dirigida por la Dra. Marilyn Cruz Bedón. Actualmente, el Director Ejecutivo de la ABG es el Mgs. Jean Pierre Cadena. Los análisis se realizaron en las instalaciones

de la ABG en Santa Cruz, coordinadas por los investigadores Patricio A. Vega-Mariño y Edgard Alberto Vélez Pineda. La misión de ABG es la de controlar, regular y reducir el riesgo de introducción y dispersión de especies exóticas que pongan en riesgo la biodiversidad de las islas Galápagos. Durante cuatro meses, los voluntarios de la UMA trabajaron en las instalaciones de ABG en Puerto Ayora, en la isla de Santa Cruz con la colaboración del MAG y otras organizaciones como Conservación Internacional Se de Galápagos, cuyo objetivo es promover prácticas sostenibles para el autoabastecimiento de las islas, llevando a cabo el muestreo y análisis de cultivos en la isla.



Figura 2. Voluntarios de Cooperación Internacional de la UMA del proyecto “Deteción e identificación de virus prevalentes en cultivos tradicionales de importancia en la alimentación y en plantas silvestres de gran valor ecológico en las Islas Galápagos” junto a una voluntaria de ABG en el laboratorio de biología molecular procesando muestras.

El proyecto se centró en la identificación de virus de ADN circular de cadena sencilla del género Begomovirus, incluido dentro de la familia *Geminiviridae*. Los begomovirus son virus emergentes transmitidos por mosca blanca (orden *Hemiptera*, familia *Aleyrodidae*) siendo los vectores las especies *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes ricini* [4], y sus infecciones causan grandes pérdidas económicas a cultivos como el tomate [5], el calabacín [6], el pimiento [7] o la papaya [8], de especial importancia en la producción agrícola para el consumo humano.

Los voluntarios tomaron muestras de cultivos en 26 fincas de la zona rural de la isla de Santa Cruz, así como de las malezas que rodeaban a los cultivos

ya que podían ser un reservorio de estos virus. Asimismo, tomaron muestras de mosca blanca mediante un succionador de insectos.

Una vez en el laboratorio, se emplearon técnicas de biología molecular para analizar la presencia de virus en las muestras. En primer lugar, se extrajo el material genético de las muestras de cultivos. Para detectar la presencia del ADN circular se empleó la reacción de círculo rodante (RCA) y para la detección específica de begomovirus en las muestras se utilizó la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) empleando cebadores específicos de begomovirus. Además, se planteó como una contribución beneficiosa a este estudio realizar la identificación de las especies de los begomovirus que se detectaran, la cual se llevaría a cabo por medio de la secuenciación del ADN amplificado.



Figura 3. Los voluntarios y el profesor Enrique Viguera de la UMA realizando las tareas de muestreo junto a los compañeros de ABG y el MAG.

Los análisis revelaron ADN amplificado con cebadores específicos de begomovirus en 4 de las 26 fincas analizadas. Notablemente, se identificó la amplificación de ADN con dichos cebadores en las muestras de malezas en 20 de las 26 fincas. La futura secuenciación de los amplificados podrá confirmar la presencia de estos virus emergentes en las islas Galápagos. Además, de confirmarse la presencia de los virus se identificarán aquellas especies de malezas que podrían estar actuando como reservorio de virus. Igualmente, será necesario realizar la detección de virus en la mosca blanca y la identificación taxonómica de ésta por *DNA barcoding*. Esta información es de gran importancia para el manejo y el control de los virus ya que la mosca blanca podría actuar como vector de transmisión de los posibles virus a los cultivos desde las malezas.

Los productores de las distintas fincas fueron informados para desarrollar, en colaboración con el MAG, estrategias de control de plagas que sean sostenibles y respetuosas con la biodiversidad de las islas. En cuanto a la identificación de las especies concretas de los begomovirus detectados, está pendiente la autorización del Ministerio del Ambiente de Ecuador, con el Área de Biodiversidad, autoridad competente para emitir los permisos de acceso a recursos genéticos, para el envío de las muestras a secuenciar.



Figura 4. La voluntaria Laura Ramos recolectando ejemplares de mosca blanca en los cultivos de muestreo mediante un succionador de insectos. Detalle a la lupa de un individuo.

En conclusión, este trabajo sería el primer estudio realizado en las islas Galápagos para la identificación de virus emergentes de ADN circular de cadena sencilla transmitidos por mosca blanca. Se debe prestar gran atención a los reservorios virales tanto de la maleza como de la mosca blanca (vector) para que, en caso de detectarse dichos virus, se implementen medidas de control que puedan minimizar el riesgo de transmisión a los cultivos y a plantas endémicas, de gran importancia económica y ecológica para las islas Galápagos.

En cuanto a lo personal, la participación en este proyecto permitió a los voluntarios desarrollar competencias profesionales y mejorar sus habilidades de investigación. Además, pudieron disfrutar la experiencia de vivir en uno de los lugares con mayor biodiversidad del planeta, y entablar amistad con los residentes de las islas, así como con voluntarios de diferentes lugares del mundo, dando la importancia que se merece a la cooperación internacional.



Figura 5. La voluntaria Rocío España tomando datos sobre las especies cultivadas y la maleza a su alrededor, así como los cuidados en la finca.

Referencias

- [1] UNESCO. “Reserva de la Biosfera Archipiélago de Colón – Galápagos (Ecuador)”. Disponible en: <https://es.unesco.org/biosphere/lac/galapagos> (Consulta: 3 de octubre de 2023).
- [2] Darwin, C. R. *On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*. 1859. Disponible online
- [3] Phillips, R.B., Wiedenfeld, D.A. & Snell, H.L. (2012). Current status of alien vertebrates in the Galápagos Islands: invasion history, distribution and potential impacts. *BioInvasions* 14, 461-480. DOI:10.1007/s10530-011-0090-z
- [4] Navas-Castillo, J., Fiallo-Olivé, E., & Sánchez-Campos, S. (2011). Emerging Virus Diseases Transmitted by Whiteflies. *Annual Review of Phytopathology* 49:1, 219-248. DOI: 10.1146/annurev-phyto-072910-095235
- [5] Paz-Carrasco, L. C., Castillo-Urquiza, G. P., Lima, A. T. M., Xavier, C. A. D., Vivas-Vivas, L. M., Mizubuti, E. S. G., & Zerbini, F. M. (2014). Begomovirus diversity in tomato crops and weeds in Ecuador and the detection of a recombinant isolate of rhynchosia golden mosaic Yucatan virus infecting tomato. *Archives of Virology*, 159(8), 2127–2132. DOI:10.1007/s00705-014-2046-y
- [6] Mohammed, D., Adhab, M., & Al-Kuwaiti, N. (2021). Molecular characterization of viruses associated to leaf curl disease complex on zucchini squash in Iraq reveals Deng primer set could distinguish between New and Old World Begomoviruses. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 93(suppl 3), e20210050. DOI: 10.1590/0001-3765202120210050
- [7] Fiallo-Olivé, Elvira, Chirinos, Dorys, Castro, Rossana & Navas-Castillo, Jesús. (2018). A Novel Strain of Pepper Leafroll Virus Infecting Common Bean and Soybean in Ecuador. *Plant Disease*. 103. 10.1094/PDIS-06-18-1076-PDN. DOI:10.1094/PDIS-06-18-1076-PDN
- [8] Varun, P., Ranade, S.A. & Saxena, S. (2017). A molecular insight into papaya leaf curl—a severe viral disease. *Protoplasma* 254, 2055–2070. DOI: 10.1007/s00709-017-1126-8