



Respuestas moleculares de insectos a factores bióticos y abióticos

Lucio Navarro Escalante*

* Investigador Científico I, Disciplina de Entomología, Centro Nacional de Investigaciones de Café
<https://orcid.org/0000-0001-7315-5669>

Como citar:

Navarro, L. (2020). Respuestas moleculares de insectos a factores de estrés ambientales y biológicos. En P. Benavides Machado & C. E. Góngora (Eds.), *El Control Natural de Insectos en el Ecosistema Cafetero Colombiano* (pp. 142-157). Cenicafé. https://doi.org/10.38141/10791/0001_6



Las poblaciones naturales de insectos se encuentran sometidas a diversos factores abióticos (temperatura y humedad) y bióticos (patógenos y enemigos naturales), que ejercen sobre ellas fuerzas que modulan su dinámica poblacional y el desarrollo de los individuos. Muchos de estos factores interactúan entre ellos de formas complejas, influenciando el crecimiento o disminución de las poblaciones dentro de un balance evolutivo y ecológico.

Estos mismos, a su vez establecen límites espaciales y temporales en la distribución biogeográfica de las poblaciones de insectos. Entre los factores abióticos, la temperatura juega el papel más importante, teniendo grandes efectos en la sobrevivencia, desarrollo, reproducción, dispersión y potencial biogeográfico de los individuos o poblaciones (García-Robledo et al., 2016; Jaworski & Hilszczański, 2013). Elementos bióticos como bacterias, hongos, virus, parásitos, depredadores, disponibilidad de fuentes de energía (alimento) y la competencia intraespecífica también son fuerzas clave que controlan el tamaño de las poblaciones al causar la muerte de una buena parte de los individuos. Adicionalmente, existen componentes genéticos y fisiológicos intrínsecos en las poblaciones naturales de insectos que controlan su reproducción en relación con la densidad.

En su conjunto, todos estos factores constituyen un mecanismo de control natural de las poblaciones de insectos que juegan un papel clave en el equilibrio natural de las especies. A pesar de ello, evolutivamente los insectos han desarrollado características para contrarrestar el efecto de estos elementos. Algunos insectos pueden tolerar cambios extremos de temperatura mediante adaptaciones fisiológicas que los protegen de los efectos nocivos del frío o calor (King & MacRae, 2015; Lee, 1991). Frente al ataque de microorganismos entomopatógenos o ciertos parasitoides, los insectos pueden generar respuestas de inmunidad que les permiten en algunos casos defenderse de

forma efectiva (Kingsolver et al., 2013; Lu & St. Leger, 2016; Nakhleh et al., 2017).

El estudio y entendimiento de los factores que controlan naturalmente a los insectos toman su mayor importancia en el desarrollo de estrategias de manejo de insectos plagas en la agricultura. Hoy día, el desarrollo de estrategias de manejo integrado de plagas (MIP) busca implementar en gran medida factores bióticos, incluyendo entomopatógenos (hongos, bacterias y virus), parasitoides y depredadores.

El uso de factores abióticos o físicos, principalmente choques térmicos (frío o calor), también son implementados en muchas ocasiones. Por ejemplo, dentro del MIP para la broca del café *Hypothenemus hampei* en Colombia se utilizan métodos de control biológico como el hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* y métodos de choque térmico como la solarización de granos de café infestados con broca en el proceso de beneficio (Bustillo et al., 1998).

La eficacia de los métodos de control biológico (entomopatógenos y parasitoides) dependen en gran medida de las complejas interacciones entre el insecto blanco y los agentes biológicos utilizados. En este capítulo se presenta una revisión sobre algunos de los mecanismos moleculares y fisiológicos que emplean los insectos para responder al estrés ocasionado por factores abióticos como la temperatura y por bióticos como los microorganismos patógenos y los parasitoides.

Las respuestas al estrés por temperatura han sido estudiadas en una amplia variedad de especies de importancia agrícola (Zhao & Jones, 2012). No obstante, el conocimiento actual de las respuestas inmunes de insectos a factores bióticos, se ha desprendido principalmente de estudios realizados en especies modelo como la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, aunque estos mecanismos son altamente conservados y pueden muchas veces extrapolarse a otras especies.

Respuestas moleculares en insectos frente a factores abióticos: estrés térmico

El estrés causado por altas y bajas temperaturas en la biología de los insectos es respondido por procesos moleculares y fisiológicos. Frente al estrés causado por cambios en la temperatura, los insectos responden mediante el incremento en la producción de proteínas de choque térmico (HSP, del inglés *Heat Shock Proteins*) y diversas enzimas antioxidantes. La sensibilidad o tolerancia al estrés térmico en muchos insectos es dependiente del estado de vida. En diversas especies, los estados inmaduros (larvas, pupas o ninfas) y adultos se enfrentan a diferentes condiciones ambientales, lo que evolutivamente conlleva a diferentes niveles de tolerancia y plasticidad de las respuestas (King & MacRae, 2015).

Proteínas de choque térmico (HSP)

Las proteínas HSP componen una superfamilia de proteínas que en su mayoría son constitutivas en células de procariontes y eucariotes, y sirven como chaperonas moleculares para el correcto ensamblaje de otras proteínas. Algunas HSP son inducidas específicamente por diferentes factores ambientales de estrés, incluyendo temperatura. Entre las diversas funciones moleculares que cumplen las HSP se incluye el plegamiento y desplegamiento, ensamble y desensamble, transporte y degradación de proteínas mal agregadas (Feder & Hofmann, 1999; Parsell & Lindquist, 1993; Sørensen et al., 2003). Su clasificación en familias se ha basado en relaciones filogenéticas y su tamaño molecular: Hsp110, Hsp100, Hsp90, Hsp70, Hsp60 y Hsp pequeñas (sHsps - small Hsps; entre los rangos de 12 a 43 kDa) (Feder & Hofmann, 1999).



Bajo estrés térmico, diversos genes para proteínas HSP son sobreexpresados en insectos, incluyendo principalmente miembros de las familias Hsp70, Hsp90 y sHsps (Figura 19). La familia Hsp70 es una de las más conservadas evolutivamente y de las que más se han estudiado. La versión en procariotas, llamada DnaK, es 60% similar a sus homólogos Hsp70 en eucariotas. Las Hsp70 funcionalmente contienen dos dominios proteicos, un dominio ATPasa y un dominio de unión a proteínas. Esta familia es codificada por dos genes, uno constitutivo (*hsc70*) y otro inducible (*hsp70*). Bajo condiciones ambientales normales, el gen *hsc70* se expresa de forma constitutiva en todas las células, mientras que el *hsp70* se expresa a muy bajos niveles o no se expresa (Bettencourt et al., 2008; Prentice et al., 2004). Bajo condiciones de estrés, los niveles de expresión del *hsc70* se mantienen constantes, mientras que el *hsp70* es altamente inducido y sobre-expresado (Bettencourt et al., 2008). Aunque ambas proteínas Hsp70 funcionan como chaperonas, el *hsc70* está principalmente involucrado en

procesos fisiológicos del desarrollo y sólo en pocos ejemplos se ha encontrado en respuesta a estrés (Knigge et al., 2014; Sonoda et al., 2006). Por ejemplo, en la polilla *Plutella xylostella* ambos genes (*hsc70* y *hsp70*) fueron inducidos en el insecto, bajo condiciones de estrés térmico (Sonoda et al., 2006).

Es conocido en insectos que la expresión de genes Hsp70 confieren tolerancia al calor y proveen una protección al daño ejercido por el estrés térmico. En diferentes especies, las proteínas Hsp70 aumentan su abundancia en células de insectos sometidos a altas o bajas temperaturas, sea como respuestas a condiciones extremas de cortos (horas o días) o largos períodos de tiempo (meses o estaciones). La inducción o sobreexpresión de genes *hsp70* como respuesta a choques de calor o frío ha sido encontrada en algunas especies de diferentes órdenes como el gorgojo del arroz *Lissorhoptrus oryzophilus* (Coleoptera) (Yuan et al., 2014), el saltahojas del té *Empoasca onukii* (Hemiptera) (Qiao et al., 2015), *Xestia c-nigrum* (Lepidoptera)

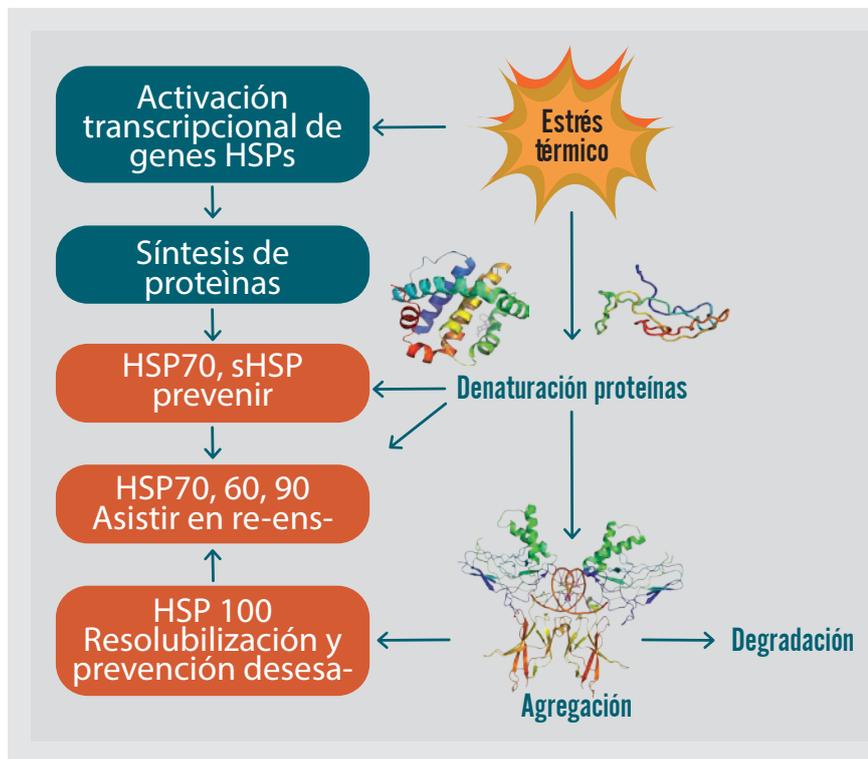


Figura 19. Respuestas basadas en el aumento de proteínas de choque térmico (HSP) frente al estrés térmico en insectos. Los efectos letales del estrés térmico causados por la denaturación, agregación y degradación de proteínas son contrarrestados por la activación de diversas familias de genes HSP.

(Wang et al., 2015) y la mosca del trigo *Sitodiplosis mosellana* (Diptera) (Cheng et al., 2016). A partir de estas investigaciones es claro observar que los genes Hsp70 son sobreexpresados con mayor intensidad en condiciones de estrés por altas temperaturas en comparación con bajas temperaturas.

La familia Hsp90 es también altamente conservada y abundante y se encuentra involucrada en diversos procesos fisiológicos como control del ciclo celular, sobrevivencia celular y señales hormonales (Buchner & Li, 2013; Jackson, 2013). Funcionalmente están conformadas por tres dominios proteicos: un dominio N-terminal de unión a ATP, una región media y un dominio C-terminal involucrado en homodimerización. Las proteínas Hsp90 pueden representar entre 1% y 2% del total de proteínas en células en condiciones normales. Bajo condiciones de estrés térmico, las Hsp90 son inducidas a niveles que alcanzan hasta dos veces la cantidad presente en condiciones normales (Whitesell & Lindquist, 2005). La sobreexpresión de genes Hsp90 como respuesta a estrés por altas temperaturas ha sido registrada en varias especies de insectos. Por ejemplo, en *L. oryzaophilus* (Coleoptera), dos genes Hsp90 (*LoHsp90b* y *LoHsp90c*) fueron sobreexpresados en condiciones de estrés térmico a 43°C (Yuan et al., 2014). En la polilla oriental de los frutos *Grapholita molesta* (Lepidoptera), el gen *Gmhsp90* incrementó su expresión a medida que se sometía a condiciones de estrés por calor, a temperaturas cada vez más altas (26° a 44°C) y por períodos de tiempo más extensos, de 15 a 105 min. (Chen et al., 2014). Resultados similares se observaron en el gen *Eohsp90* de *E. onukii* (Hemiptera), expuestos a condiciones de alta temperatura (Qiao et al., 2015).

Las HSP pequeñas (sHSP) son otra familia de proteínas chaperonas que responden a condiciones de estrés térmico en insectos. A diferencia de otras familias HSP, las sHSP son más diversas a nivel de secuencia, tamaño, estructura y función. Estructuralmente contienen un dominio

α -crystallin relativamente conservado cerca a su extremo C-terminal (Fu et al., 2006). Funcionalmente, varias subunidades de sHSP forman largos oligómeros con la capacidad de unirse a otras proteínas y prevenir su denaturación térmica (Van Montfort et al., 2001). Dentro de una misma especie, diversos genes para sHSP pueden responder específicamente a estrés por calor o frío, mientras otros genes al parecer son inducidos por cualquier condición de estrés térmico. En la polilla oriental de las frutas, por ejemplo, se identificaron diez genes sHSP que respondieron bajo condiciones de alta temperatura (40°C hasta por 2 horas), ocho genes sHSP que respondieron a bajas temperaturas (-5°C hasta por 2 horas), mientras otros ocho genes adicionales fueron inducidos consistentemente bajo ambas condiciones (Zhang et al., 2015).

Enzimas antioxidantes frente al estrés térmico

Condiciones de estrés térmico, al igual que otros tipos de estresores, tienen la capacidad de generar en células de insectos altas concentraciones de especies de oxígeno reactivas (ROS, del inglés *Reactive Oxygen Species*). Estas concentraciones elevadas de ROS causan daño oxidativo en proteínas, ADN y lípidos en las células (Apel & Hirt, 2004). Para contrarrestar los efectos dañinos de especies ROS, las células responden aumentando la actividad de enzimas antioxidantes que ayudan en la remoción de estas especies (Figura 20). Los insectos responden a los altos contenidos celulares de ROS mediante varias enzimas antioxidantes, incluyendo superóxido dismutasa (SOD), catalasas (CAT), peroxidasas (POD) y glutatión-S-transferasas (GST) (Kang et al., 2017; S. Zhang et al., 2015). La SOD convierte el anión superóxido (O_2^-) en oxígeno (O_2) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), las CAT y POD rompen el H_2O_2 en O_2 y agua (H_2O), mientras que las GST eliminan los productos de la peroxidación de lípidos (hidroperóxidos). Todas estas enzimas trabajan de forma sincronizada a nivel celular como un mecanismo de defensa antioxidante.

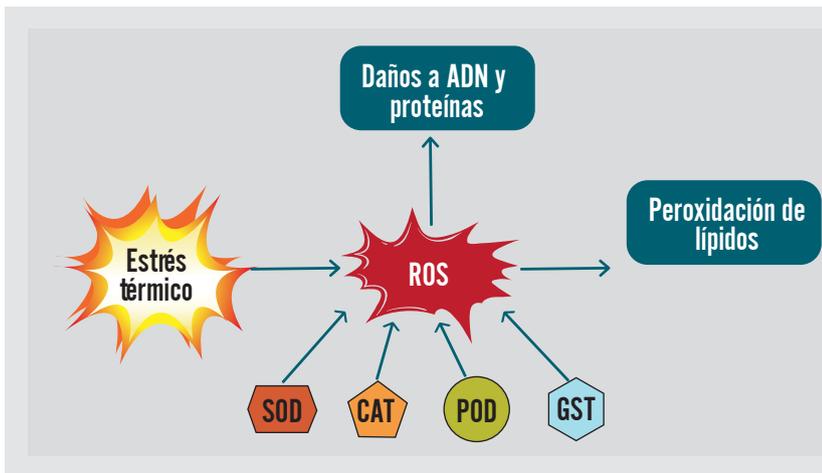


Figura 20.

Respuestas basadas en el aumento de la actividad de enzimas antioxidantes frente al estrés térmico en insectos. Cambios de temperatura en los insectos conlleva a una mayor actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD), catalasas (CAT), peroxidasas (POD) y glutatión-S-transferasas (GST), para la eliminación de especies de oxígeno reactivas (ROS) y productos de la peroxidación de lípidos (hidroperóxidos).

La mariquita *Propylaea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae) es considerada un depredador muy exitoso gracias a su tolerancia a altas temperaturas en regiones áridas de China. Al parecer esta tolerancia al estrés por calor en *P. japonica* puede explicarse por el rápido aumento en la actividad de las enzimas SOD, POD, CAT y GST, durante la exposición a altas temperaturas (35 a 41°C) que le ayudarían a contrarrestar el daño causado por el estrés oxidativo (Zhang et al., 2015). De hecho, este insecto puede soportar hasta 41°C manteniendo una tasa de supervivencia cercana al 60%. Resultados similares fueron encontrados en el depredador *Ophraella communa* (Coleoptera: Chrysomelidae) (Chen et al., 2018). Períodos cortos (horas) y largos (días) de exposición a altas temperaturas (40 a 44°C) resultaron en una mayor actividad enzimática de SOD, CAT y POD cuando se comparaban con una temperatura control (28°C). *O. communa* se encuentra regularmente expuesta a altas temperaturas durante el verano en el hemisferio norte. De esta manera, estas defensas antioxidativas podrían estar involucradas en las respuestas fisiológicas del insecto al calor del verano en el campo. Por otro lado, en la polilla oriental del maíz *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae) existe un aumento en la actividad de las enzimas SOD, CAT y GST tanto en el estrés causado por bajas (5°C) como por altas temperaturas (40°C) (Ali et al., 2017). Probablemente estas defensas antioxidantes

hacen parte de diversos mecanismos adaptativos a temperaturas extremas en relación al hábito migratorio de *M. separata* entre regiones de Asia.

Respuestas frente a factores bióticos

Mecanismos de defensa contra microorganismos patógenos

En insectos, la principal barrera física contra la entrada de microorganismos, potencialmente patógenos, está constituida por la cutícula que los recubre completamente. La cutícula es una intrincada capa heterogénea compuesta de carbohidratos, proteínas y lípidos. La epicutícula es la subcapa más externa, rica en lípidos, que otorga una barrera hidrofóbica. Debajo de esta se encuentra la procutícula, la cual está constituida por quitina y proteínas esclerotizadas, seguida de la epidermis. A nivel del tracto digestivo de los insectos, especialmente en el intestino medio, esta barrera física está dada por una delgada capa de cutícula o membrana peritrófica constituida por quitina, proteínas y glicoproteínas. La membrana peritrófica, aunque permeable a nutrientes y enzimas, aún constituye una barrera efectiva contra

microorganismos patógenos. La cutícula es una barrera altamente efectiva contra bacterias, virus y protozoos, con muy pocas excepciones. Tan solo un pequeño número de especies de hongos, aquellos con actividad entomopatógena, tienen la capacidad de penetrarla (Ortiz-Urquiza & Keyhani, 2013).

En caso que un microorganismo potencialmente patógeno cruce la cutícula o la membrana peritrófica, los insectos pueden detectar y responder al ataque mediante un complejo sistema inmune. Gran parte de estas respuestas ocurren en los cuerpos grasos de los insectos mediante la síntesis de efectores antimicrobianos y su secreción directa en la hemolinfa. Debido a que todos los órganos internos de los insectos se encuentran embebidos en esta hemolinfa, las respuestas inmunes a los microorganismos invasivos son, en la gran mayoría de los casos, efectivas y de forma sistémica (Feldhaar & Gross, 2008). Las respuestas inmunes de los insectos se basan principalmente en un sistema innato que comparte con otros organismos multicelulares, debido a que su desarrollo inició durante la evolución de las primeras formas de vida multicelulares.

El sistema inmune adquirido o adaptativo, el cual involucra la detección de antígenos específicos y la creación de una memoria inmunológica específica, evolucionó más tarde. Inicialmente se creyó que los insectos carecían de un sistema inmune adaptativo, no obstante, en los últimos años esta visión ha cambiado debido a recientes hallazgos (Cooper & Eleftherianos, 2017; Ligoxygakis, 2017). El sistema inmune innato no es altamente específico, sin embargo, tiene la capacidad de discriminar entre diferentes clases de patógenos y entre microorganismos simbioses y no simbioses. El sistema inmune innato de los insectos puede dividirse en: (i) un sistema celular que involucra procesos de fagocitosis y encapsulación llevada a cabo por hemocitos presentes principalmente en la hemolinfa (Lavigne & Strand, 2002; Strand, 2008), y (ii) un sistema humoral que incluye la producción de péptidos antimicrobianos (AMP), ROS, procesos de melanización y coagulación.

Reconocimiento y respuesta a bacterias patógenas

El primer paso antes de preparar una respuesta inmune a la invasión de microorganismos es la detección del patógeno (Figura 21). La detección temprana de bacterias en insectos involucra el reconocimiento de moléculas bacterianas (peptidoglucanos) presentes en su pared celular. El reconocimiento de estos patrones moleculares asociados a microorganismos (PAMP: pathogen-associated molecular patterns) es llevado a cabo por proteínas receptoras en el insecto o proteínas de reconocimiento de peptidoglucanos (PGRP) (Charroux et al., 2009). Diferentes clases de receptores PGRP en insectos reconocen diferencialmente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas basados en la composición de sus peptidoglucanos. El reconocimiento diferencial entre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, a su vez determina la activación de una de dos rutas moleculares de respuestas inmunes. Las infecciones por bacterias Gram-positivas, al igual que las infecciones por hongos, activan la ruta inmune Toll, mientras que bacterias Gram-negativas activan la ruta inmune Imd (*Immune deficient*). Ambas rutas inmunes resultan en la producción de diversos efectores antimicrobianos, incluyendo AMP. Otras cascadas de señalización intracelulares que activan respuestas de inmunidad en insectos han sido reconocidas, incluyendo las rutas JAK/STAT y JNK; sin embargo, su contribución precisa a estas respuestas no son claras (Lu & St. Leger, 2016).

En la ruta Toll, el reconocimiento de PAMP de bacterias Gram-positivas es mediada por proteínas PGRP extracelulares, que activan a la serina proteasa SPE (*Spatzle processing enzyme*). La SPE modifica de la forma inactiva a su forma activa a la proteína Spatzle, la cual finalmente se adhiere y activa a receptores membranales Toll. La activación de receptores Toll en la célula del insecto inicia una cascada de señales intracelulares que terminan en la activación de factores nucleares de transcripción específicos (Dorsal y Dif) y la expresión de genes AMP. En la ruta inmune Imd, por otro lado, el reconocimiento

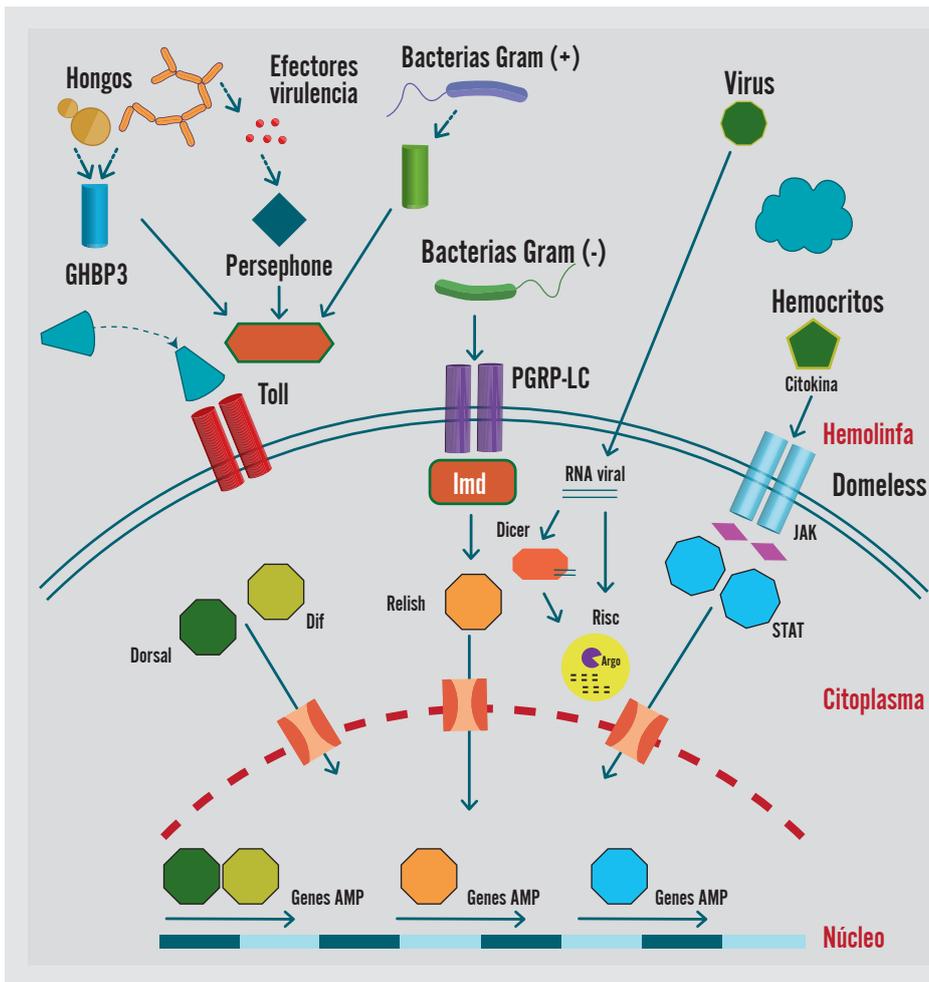


Figura 21. Mecanismos moleculares de reconocimiento y respuesta a microorganismos patógenos en insectos. La ruta inmune Toll es responsable por las respuestas a hongos y bacterias Gram-positivas patógenas. La ruta inmune Imd responde a bacterias Gram-negativas patógenas. La ruta inmune JAK/STAT y los mecanismos de RNA de interferencia son responsables por las respuestas a virus patógenos. Estas rutas inmunes principalmente desencadenan la activación transcripcional de genes para péptidos AMP, como parte de los mecanismos de defensa al ataque de microorganismos.

de PAMP de bacterias Gram-negativas es mediada directamente por receptores PGRP transmembranales (PGRP-LC). La proteína Imd es un adaptador citoplasmático que se conecta con la región intracelular de PGRP-LC y que, luego de su activación, inicia una cascada de señales intracelulares para la activación del factor de transcripción Relish y la expresión de genes AMP (Myllymäki et al., 2014).

Reconocimiento y respuestas a hongos entomopatógenos

La detección de infecciones por hongos también se basa en el reconocimiento de PAMP generados por componentes estructurales de la pared de los hongos o por

proteínas secretadas (efectores de virulencia) por estos mismos (Figura 21). La detección de PAMP de origen fúngico desencadena respuestas inmunes humores a través de la ruta Toll, mediante un mecanismo similar al reconocimiento de bacterias Gram-positivas. Los beta-glucanos presentes en la pared celular de los hongos actúan como moléculas PAMP y son reconocidos directamente por proteínas receptoras extracelulares (GNBP3), específicas del insecto (Matskevich et al., 2010). Algunas enzimas proteasas secretadas como efectores de virulencia por hongos entomopatógenos también actúan como PAMP y son detectadas por el insecto mediante la activación de la proteína Persephone (Gottar et al., 2006). Tanto el receptor GNB3 como la proteína Persephone activan a SPE para la consecuente

formación de Spatzle, activación de receptores Toll e inicio de la cascada intracelular, que culmina en respuestas inmunes humorales como la expresión de genes AMP.

La detección de la presencia de hongos entomopatógenos también desencadena respuestas inmunes celulares que involucran a los hemocitos en la hemolinfa. Un tipo especial de hemocitos responde mediante la liberación de la enzima profenoloxidasas (proPO), una enzima clave en la biosíntesis de melanina. La forma activa de la fenol oxidasas (PO) es producida por la acción de serina proteasas sobre proPO después de su liberación en el plasma (Cerenius & Soderhall, 2004). La acción enzimática de PO finalmente desencadena el proceso de formación de melanina (melanización) alrededor de las células invasoras. Adicional al proceso de melanización, otro tipo de hemocitos también responden mediante procesos de coagulación, a través de la producción de hemolectin, el principal componente de las fibras proteicas para la coagulación de la hemolinfa (Lemaitre & Hoffmann, 2007). El proceso de coagulación sella la herida de entrada del hongo y previene que otros microorganismos entren y se dispersen en la cavidad del insecto.

DetECCIÓN Y RESPUESTAS CONTRA VIRUS

Los insectos pueden ser blanco directo de la infección de virus o servir simplemente como hospedantes de ellos, como el caso de arbovirus humanos y virus patógenos de plantas. Cualquiera sea el caso, los insectos pueden detectar estas infecciones y desarrollar respuestas inmunes innatas, que involucran rutas mediadas por ARN de interferencia (ARNi) y la ruta JAK/STAT (Figura 21). Adicionalmente, existen evidencias basadas en estudios en *Drosophila* y mosquitos indicando que las rutas Toll e Imd estarían también involucradas en respuestas inmunes antivirales (Costa et al., 2009; Xi et al., 2008; Zambon et al., 2005).

El ARNi en insectos juega un papel muy importante en la limitación y el control de las infecciones virales (Zambon et al., 2006). El

ARNi es un mecanismo altamente conservado presente en células eucariotas, en el cual moléculas especiales de ARN interfieren con moléculas de ARN blanco (ARN mensajeros o ARN virales), generando el silenciamiento de genes específicos o previniendo la replicación viral. Durante una infección viral, el ARN de doble cadena (ARNdc) generado por el virus, inicia la respuesta ARNi mediante la activación de la enzima Dicer, la cual rompe el ARNdc para producir pequeñas moléculas (21-24 bases) de ARN de interferencia (ARNsi). Estos ARNsi son montados al complejo proteico RISC (*RNA induced silencing complex*) y sirven de guía para la identificación del ARN viral blanco mediante complementariedad y subsecuente degradación, a través de la enzima ARNasa (Argonauta) del complejo. De esta manera, la consecuencia final del proceso ARNi en la respuesta inmune es la inhibición de la replicación del virus.

El mecanismo por el cual la ruta JAK/STAT ejerce un efecto inmune antiviral no es totalmente claro (Kingsolver et al., 2013). La activación de esta ruta parece ser consecuencia de un reconocimiento inicial de la infección por receptores que también podrían activar otras rutas inmunes (Toll o Imd) o el reconocimiento del ARNdc viral por Dicer (Deddouche et al., 2008). La ruta JAK/STAT inicia cuando un ligando extracelular (upd3 o vago) se une a su receptor (Dome o desconocido), generando una cascada de fosforilación de JAK y STAT. La proteína STAT activa es un factor de transcripción que se transloca hacia el núcleo celular para inducir la expresión de genes para efectores antivirales y AMP (Dostert et al., 2005; Hedges & Johnson, 2008).

PÉPTIDOS AMP DE INSECTOS

Los insectos pueden producir una amplia variedad de proteínas o péptidos con actividad antimicrobiana contra bacterias, hongos y virus invasores. El primer AMP de insectos, cecropina, fue purificado de pupas de *Hyalophora cecropia*, en 1980 (Hultmark et al., 1980), y desde entonces se han descubierto más de 150 AMP en diversas especies de



insectos. Los AMP son proteínas pequeñas de bajo peso molecular, típicamente de estructuras catiónicas y anfipáticas, lo cual les permiten interactuar con la superficie aniónica de microbios e insertarse a través de la membrana citoplásmica. Los AMP de insectos pueden clasificarse en cuatro grandes grupos: defensinas (ricos en cisteína), cecropinas (alpha-helicoidales), péptidos ricos en prolina y atacinas (ricos en glicina) (Bulet & Stöcklin, 2005). La mayoría de AMP activos contienen de 20 a 50 aminoácidos, los cuales son generados a partir de precursores inactivos más grandes. En general, los AMP pueden ser asignados a dos modos de acción: membranolíticos y no-membranolíticos. La gran mayoría son membranolíticos y su actividad disruptiva de membranas pueden involucrar la formación de poros, adelgazamiento o disolución de la membrana y la formación de dominios lípido-peptídicos. En otros casos, los AMP se adhieren a blancos intracelulares del patógeno como ácidos nucleicos y proteínas (Tonk et al., 2016).

Detección y respuesta a parasitoides

La mayoría de los agentes parasitoides de otros insectos se encuentran dentro de los órdenes Hymenoptera y Diptera. Las especies parasitoides frecuentemente dejan sus huevos sobre (ectoparasitoides) o dentro (endoparasitoides) del insecto hospedante. Las respuestas inmunes de insectos contra estos invasores han sido mejor estudiadas en hospedantes de endoparasitoides, principalmente respuestas celulares. Las especies de parasitoides adaptadas a hospedantes específicos alcanzan su éxito biológico gracias al desarrollo de mecanismos para evadir o suprimir la respuesta inmune de este último. Sin embargo, un gran número de especies o poblaciones de hospedantes pueden generar respuestas inmunes a parasitoides aún no adaptados.

La encapsulación del organismo invasor es la principal respuesta inmune del hospedante frente a la presencia de huevos o larvas del endoparasitoide (Gillespie et al., 1997). Para

que la encapsulación tenga lugar, primero el cuerpo invasor debe ser identificado como extraño por las células presentes en la hemolinfa. Aunque los mecanismos moleculares de este reconocimiento son desconocidos, es claro que este proceso es llevado a cabo por hemocitos en la hemolinfa (Pech & Strand, 1996). El proceso de encapsulación involucra un recubrimiento del cuerpo extraño con una multicapa de hemocitos y con material fibroso, que impiden cualquier comunicación entre el cuerpo invasor y los tejidos del hospedante. La encapsulación involucra complejas interacciones entre diferentes tipos de hemocitos y la síntesis de integrinas y lectinas durante la formación de la multicapa (Ling & Yu, 2006; Yu & Kanost, 2004; Zhuang et al., 2008).

En la gran mayoría de los casos la encapsulación es seguida por un proceso de melanización y liberación de compuestos citotóxicos que resultan en la muerte del parasitoide por asfixia o citotoxicidad (Carton et al., 2008). Al igual que en las respuestas inmunes celulares contra microorganismos, la enzima PO también juega un papel importante en la melanización de la cápsula que recubre al cuerpo invasor. La ruta Toll juega un rol clave en la cascada de señales que controlan la producción de PO y desencadenan la diferenciación y proliferación de hemocitos durante la encapsulación (Schlenke et al., 2007). Entre los compuestos citotóxicos que son liberados por los hemocitos de la cápsula, algunos de los principales incluyen a las especies de ROS. Concentraciones elevadas de H_2O_2 y O_2^- conducen a la producción de radicales hidroxilo (OH) capaces de promover la peroxidación de lípidos y causar daños en proteínas y el ADN del parásito, causando la muerte del mismo (Carton et al., 2008).

Consideraciones finales

El control natural de las poblaciones de insectos debido a factores ambientales y biológicos hace parte de los procesos ecológicos



que regulan la dinámica y biogeografía de las poblaciones naturales. Los cambios de temperatura extremos y los enemigos naturales (patógenos y parasitoides) son fuentes de mortalidad importante dentro de las poblaciones de insectos, no obstante, ellas pueden tolerar el estrés causado por estos factores mediante diversas adaptaciones genéticas y fisiológicas. La sobreexpresión de genes para proteínas HSPs y el aumento en la actividad de enzimas antioxidantes constituyen algunas de las adaptaciones que les permiten a los insectos tolerar los efectos letales de las temperaturas extremas o los cambios rápidos de temperatura en cortos períodos de tiempo. Por otro lado, el desarrollo de respuestas inmunes que involucran procesos humorales y celulares les permiten a los insectos defenderse frente al ataque de ciertos entomopatógenos y parasitoides.

Con los actuales cambios en el régimen climático global y local, se ha despertado el interés de los científicos sobre los efectos del clima, especialmente temperatura y humedad,

sobre la biología de los insectos. Gran parte de las investigaciones tendientes a medir y predecir el impacto del cambio climático sobre los insectos se han enfocado en las comunidades de especies presentes en el hemisferio Norte (Andrew et al., 2013). Para los insectos del trópico son escasas las investigaciones que buscan este mismo objetivo, a pesar del impacto que tendría este conocimiento en la dinámica de los insectos dentro de la agricultura tropical. Para el caso de la caficultura, es importante no solo estudiar los efectos del clima en la dinámica de los insectos plagas y los benéficos, sino también establecer a nivel fisiológico y ecológico las capacidades de ellos para adaptarse o tolerar tales cambios. Así mismo, son escasas las investigaciones que ayudan a entender las complejas interacciones fisiológicas entre insectos y entomopatógenos o parasitoides a nivel de las comunidades del trópico. El desarrollo de futuras estrategias de control biológico de insectos plaga que incluya el uso de estos enemigos naturales podrán ser soportadas en este conocimiento. La caficultura tiene grandes retos científicos en estos temas que deben ser abordados en los próximos años.

Literatura citada

Ali, A., Rashid, M. A., Huang, Q. Y., Wong, C., & Lei, C.-L. (2017). Response of antioxidant enzymes in *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae) exposed to thermal stress. *Bull. Entomol. Res.*, 107(3), 382-390. <https://doi.org/10.1017/S0007485316001000>

Andrew, N. R., Hill, S. J., Binns, M., Bahar, M. H., Ridley, E. V., Jung, M.-P., Fyfe, C., Yates, M., & Khusro, M. (2013). Assessing insect responses to climate change: What are we testing for? Where should we be heading? *PeerJ*, 1, e11. <https://doi.org/10.7717/peerj.11>

Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55(1), 373-399. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>

Bettencourt, B. R., Hogan, C. C., Nimali, M., & Drohan, B. W. (2008). Inducible and constitutive heat shock gene expression responds to modification of Hsp70 copy number in *Drosophila melanogaster* but does not compensate for loss of thermotolerance in Hsp70 null flies. *BMC Biology*, 6, 5. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-6-5>

Buchner, J., & Li, J. (2013). Structure, function and regulation of the Hsp90 machinery. *Biomed. J.*, 36(3), 106. <https://doi.org/10.4103/2319-4170.113230>

Bulet, P., & Stöcklin, R. (2005). Insect antimicrobial peptides: Structures, properties and gene regulation. *Protein and Peptide Letters*, 12(1), 3-11.

Bustillo-Parley, A. E., Cardenas, R., Villalba, D. A., Benavides Machado, P., Orozco, J., & Posada, F. J. (1998). *Manejo integrado de la broca del café: Hypothenemus hampei* (Ferrari) en Colombia. Cenicafé. <http://hdl.handle.net/10778/848>

Carton, Y., Poirié, M., & Nappi, A. J. (2008). Insect immune resistance to parasitoids. *Insect Science*, 15(1), 67-87. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2008.00188.x>

Cerenius, L., & Soderhall, K. (2004). The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. *Immunological Reviews*, 198(1), 116-126. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2004.00116.x>

Charroux, B., Rival, T., Narbonne-Reveau, K., & Royet, J. (2009). Bacterial detection by *Drosophila* peptidoglycan recognition proteins. *Microbes and Infection*, 11(6), 631-636. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2009.03.004>

Chen, Hao, Xu, X.-L., Li, Y.-P., & Wu, J.-X. (2014). Characterization of heat shock protein 90, 70 and their transcriptional expression patterns on high temperature in adult of *Grapholita molesta* (Busck). *Insect Science*, 21(4), 439-448. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12057>

Chen, Hongsong, Solangi, G. S., Guo, J., Wan, F., & Zhou, Z. (2018). Antioxidant responses of ragweed leaf beetle *Ophraella communa* (Coleoptera: Chrysomelidae) exposed to thermal stress. *Frontiers in Physiology*, 9, 808. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00808>

Cheng, W., Li, D., Wang, Y., Liu, Y., & Zhu-Salzman, K. (2016). Cloning of heat shock protein genes (hsp70, hsc70 and hsp90) and their expression in response to larval diapause and thermal stress in



the wheat blossom midge, *Sitodiplosis mosellana*. *J. Journal of Insect Physiology*, 95, 66-77. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.09.005>

Cooper, D., & Eleftherianos, I. (2017). Memory and specificity in the insect immune system: Current perspectives and future challenges. *Frontiers in Immunology*, 8, 539. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00539>

Costa, A., Jan, E., Sarnow, P., & Schneider, D. (2009). The Imd pathway is involved in antiviral immune responses in *Drosophila*. *PLoS One*, 4(10), e7436. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007436>

Deddouche, S., Matt, N., Budd, A., Mueller, S., Kemp, C., Galiana-Arnoux, D., Dostert, C., Antoniewski, C., Hoffmann, J. A., & Imler, J.-L. (2008). The DExD/H-box helicase Dicer-2 mediates the induction of antiviral activity in *Drosophila*. *Nature Immunology*, 9(12), 1425-1432. <https://doi.org/10.1038/ni.1664>

Dostert, C., Jouanguy, E., Irving, P., Troxler, L., Galiana-Arnoux, D., Hetru, C., & Imler, J.-L. (2005). The Jak-STAT signaling pathway is required but not sufficient for the antiviral response of *Drosophila*. *Nature Immunology*, 6(9), 946-953. <https://doi.org/10.1038/ni1237>

Feder, M. E., & Hofmann, G. E. (1999). Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: Evolutionary and ecological physiology. *Annual Review of Physiology*, 61(1), 243-282. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.61.1.243>

Feldhaar, H., & Gross, R. (2008). Immune reactions of insects on bacterial pathogens and mutualists. *Microbes and Infection*, 10(9), 1082-1088. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2008.07.010>

Fu, X., Jiao, W., & Chang, Z. (2006). Phylogenetic and biochemical studies reveal a potential evolutionary origin of small heat shock proteins of animals from bacterial class A. *Journal of Molecular Evolution*, 62(3), 257-266. <https://doi.org/10.1007/s00239-005-0076-5>

García-Robledo, C., Kuprewicz, E. K., Staines, C. L., Erwin, T. L., & Kress, W. J. (2016). Limited tolerance by insects to high temperatures across tropical elevational gradients and the implications of global warming for extinction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(3), 680-685. <https://doi.org/10.1073/pnas.1507681113>

Gillespie, J. P., Kanost, M. R., & Trenczek, T. (1997). Biological mediators of insect immunity. *Annual Review of Entomology*, 42(1), 611-643. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.42.1.611>

Gottar, M., Gobert, V., Matskevich, A. A., Reichhart, J.-M., Wang, C., Butt, T. M., Belvin, M., Hoffmann, J. A., & Ferrandon, D. (2006). Dual detection of fungal infections in *Drosophila* via recognition of glucans and sensing of virulence factors. *Cell*, 127(7), 1425-1437. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.10.046>

Hedges, L. M., & Johnson, K. N. (2008). Induction of host defence responses by *Drosophila* C virus. *Journal of General Virology*, 89(6), 1497-1501. <https://doi.org/10.1099/vir.0.83684-0>

Hultmark, D., Steiner, H., Rasmuson, T., & Boman, H. G. (1980). Insect immunity. Purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia*. *European Journal of Biochemistry*, 106(1), 7-16.

Jackson, S. E. (2013). Hsp90: Structure and function. *Topics in Current Chemistry*, 328, 155-240. https://doi.org/10.1007/128_2012_356



Jaworski, T., & Hilszczański, J. (2013). The effect of temperature and humidity changes on insects development their impact on forest ecosystems in the expected climate change. *Forest Research Papers*, 74(4), 345-355. <https://doi.org/10.2478/frp-2013-0033>

Kang, Z.-W., Liu, F.-H., Liu, X., Yu, W.-B., Tan, X.-L., Zhang, S.-Z., Tian, H.-G., & Liu, T.-X. (2017). The potential coordination of the heat-shock proteins and antioxidant enzyme genes of *Aphidius gifuensis* in response to thermal stress. *Frontiers in Physiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00976>

King, A. M., & MacRae, T. H. (2015). Insect heat shock proteins during stress and diapause. *Annual Review of Entomology*, 60(1), 59-75. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-162107>

Kingsolver, M. B., Huang, Z., & Hardy, R. W. (2013). Insect antiviral innate immunity: Pathways, effectors, and connections. *Journal of Molecular Biology*, 425(24), 4921-4936. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2013.10.006>

Knigge, T., Bachmann, L., & Köhler, H.-R. (2014). An intron-containing, heat-inducible stress-70 gene in the millipede *Tachypodoiulus niger* (Julidae, Diplopoda). *Cell Stress Chaperones*, 19(5), 741-747. <https://doi.org/10.1007/s12192-014-0494-7>

Lavine, M. D., & Strand, M. R. (2002). Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32(10), 1295-1309. [https://doi.org/10.1016/s0965-1748\(02\)00092-9](https://doi.org/10.1016/s0965-1748(02)00092-9)

Lee, R. E. (1991). Principles of insect low temperature tolerance. En R. E. Lee & D. L. Denlinger (Eds.), *Insects at Low Temperature* (pp. 17-46). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-0190-6_2

Lemaitre, B., & Hoffmann, J. (2007). The host defense of *Drosophila melanogaster*. *Annual Review of Immunology*, 25(1), 697-743. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.25.022106.141615>

Ligoxygakis, P. (2017). Immunity: Insect immune memory goes viral. *Current Biology*, 27(22), R1218-R1220. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.10.020>

Ling, E., & Yu, X. (2006). Cellular encapsulation and melanization are enhanced by immulectins, pattern recognition receptors from the tobacco hornworm *Manduca sexta*. *Developmental & Comparative Immunology*, 30(3), 289-299. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2005.05.005>

Lu, H.-L., & St. Leger, R. J. (2016). Chapter Seven—Insect immunity to entomopathogenic fungi. En B. Lovett & R. J. St. Leger (Eds.), *Advances in Genetics* (Vol. 94, pp. 251–285). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2015.11.002>

Matskevich, A. A., Quintin, J., & Ferrandon, D. (2010). The *Drosophila* PRR GNBP3 assembles effector complexes involved in antifungal defenses independently of its Toll-pathway activation function. *European Journal of Immunology*, 40(5), 1244-1254. <https://doi.org/10.1002/eji.200940164>

Myllymäki, H., Valanne, S., & Rämet, M. (2014). The *Drosophila* Imd signaling pathway. *The Journal of Immunology*, 192(8), 3455-3462. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1303309>

Nakhleh, J., El Moussawi, L., & Osta, M. A. (2017). The melanization response in insect immunity. En P. Ligoxygakis (Ed.), *Advances in Insect Physiology* (pp. 83-109). <https://doi.org/10.1016/bs.aiip.2016.11.002>

Ortiz-Urquiza, A., & Keyhani, N. O. (2013). Action on the surface: Entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. *Insects*, 4(3), 357-374. <https://doi.org/10.3390/insects4030357>



Parsell, D. A., & Lindquist, S. (1993). The function of heat-shock proteins in stress tolerance: Degradation and reactivation of damaged proteins. *Annual Review of Genetics*, 27(1), 437-496. <https://doi.org/10.1146/annurev.ge.27.120193.002253>

Pech, L. L., & Strand, M. R. (1996). Granular cells are required for encapsulation of foreign targets by insect haemocytes. *Journal of Cell Science*, 109(8), 2053-2060.

Prentice, H. M., Milton, S. L., Scheurle, D., & Lutz, P. L. (2004). The upregulation of cognate and inducible heat shock proteins in the anoxic turtle brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 24(7), 826-828. <https://doi.org/10.1097/01.WCB.0000126565.27130.79>

Qiao, L., Wu, J. X., Qin, D. Z., Liu, X. C., Lu, Z. C., Lv, L. Z., Pan, Z. L., Chen, H., & Li, G. W. (2015). Gene expression profiles of heat shock proteins 70 and 90 from *Empoasca onukii* (Hemiptera: Cicadellidae) in response to temperature stress. *Journal of Insect Science*, 15(1). <https://doi.org/10.1093/jisesa/iev030>

Schlenke, T. A., Morales, J., Govind, S., & Clark, A. G. (2007). Contrasting infection strategies in generalist and specialist wasp parasitoids of *Drosophila melanogaster*. *PLOS Pathogens*, 3(10), 1486-1501. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0030158>

Sonoda, S., Ashfaq, M., & Tsumuki, H. (2006). Cloning and nucleotide sequencing of three heat shock protein genes (hsp90, hsc70, and hsp19.5) from the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) and their expression in relation to developmental stage and temperature. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 62(2), 80-90. <https://doi.org/10.1002/arch.20124>

Sørensen, J. G., Kristensen, T. N., & Loeschcke, V. (2003). The evolutionary and ecological role of heat shock proteins. *Ecology Letters*, 6(11), 1025-1037. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00528.x>

Strand, M. R. (2008). Insect hemocytes and their role in immunology. En N. E. Beckage (Ed.), *Insect Immunology* (pp. 25-47). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012373976-6.50004-5>

Tonk, M., Vilcinskas, A., & Rahnamaeian, M. (2016). Insect antimicrobial peptides: Potential tools for the prevention of skin cancer. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(17), 7397-7405. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7718-y>

Van Montfort, R., Slingsby, C., & Vierling, E. (2001). Structure and function of the small heat shock protein/alpha-crystallin family of molecular chaperones. *Advances in Protein Chemistry*, 59, 105-156. [https://doi.org/10.1016/s0065-3233\(01\)59004-x](https://doi.org/10.1016/s0065-3233(01)59004-x)

Wang, L., Yang, S., Han, L., Zhao, K., & Ye, L. (2015). Expression profile of two HSP70 chaperone proteins in response to extreme thermal acclimation in *Xestia c-nigrum* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist*, 98(2), 506-515. <https://doi.org/10.1653/024.098.0218>

Whitesell, L., & Lindquist, S. L. (2005). HSP90 and the chaperoning of cancer. *Nature Reviews Cancer*, 5(10), 761-772. <https://doi.org/10.1038/nrc1716>

Xi, Z., Ramirez, J. L., & Dimopoulos, G. (2008). The *Aedes aegypti* toll pathway controls dengue virus infection. *PLOS Pathogens*, 4(7), e1000098. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000098>

Yu, X.-Q., & Kanost, M. R. (2004). Immulectin-2, a pattern recognition receptor that stimulates hemocyte encapsulation and melanization in the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Developmental & Comparative Immunology*, 28(9), 891-900. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2004.02.005>



Yuan, X., Zhou, W.-W., Zhou, Y., Liu, S., Lu, F., Yang, M.-F., Cheng, J., Gurr, G. M., & Zhu, Z.-R. (2014). Composition and expression of heat shock proteins in an invasive pest, the rice water weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Florida Entomologist*, 97(2), 611-619. <https://doi.org/10.1653/024.097.0237>

Zambon, R. A., Nandakumar, M., Vakharia, V. N., & Wu, L. P. (2005). The Toll pathway is important for an antiviral response in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(20), 7257-7262. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409181102>

Zambon, R. A., Vakharia, V. N., & Wu, L. P. (2006). RNAi is an antiviral immune response against a dsRNA virus in *Drosophila melanogaster*. *Cellular Microbiology*, 8(5), 880-889. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2006.00688.x>

Zhang, B., Zheng, J., Peng, Y., Liu, X., Hoffmann, A. A., & Ma, C.-S. (2015). Stress responses of small heat shock protein genes in Lepidoptera point to limited conservation of function across phylogeny. *PLoS One*, 10(7), e0132700. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132700>

Zhang, S., Fu, W., Li, N., Zhang, F., & Liu, T.-X. (2015). Antioxidant responses of *Propylaea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae) exposed to high temperature stress. *Journal of Insect Physiology*, 73, 47-52. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2015.01.004>

Zhao, L., & Jones, W. A. (2012). Expression of heat shock protein genes in insect stress responses. *Invertebrate Survival Journal*, 9(1), 93-101.

Zhuang, S., Kelo, L., Nardi, J. B., & Kanost, M. R. (2008). Multiple alpha subunits of integrin are involved in cell-mediated responses of the *Manduca* immune system. *Developmental & Comparative Immunology*, 32(4), 365-379. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2007.07.007>

Como citar:

Navarro, L. (2020). Respuestas moleculares de insectos a factores de estrés ambientales y biológicos. En P. Benavides Machado & C. E. Góngora (Eds.), *El Control Natural de Insectos en el Ecosistema Cafetero Colombiano* (pp. 142-157). Cenicafé. https://doi.org/10.38141/10791/0001_6

