

Convocatoria de ayuda a proyectos de investigación liderados por jóvenes investigadores (6ª ed., 2016)

1. Datos de identificación.

Título de la propuesta	Cómo vivir con raíces aéreas: Relaciones entre rasgos de raíz, tallo y hoja en orquídeas epífitas neotropicales en gradientes de humedad ambiental.
Categoría	Ganando Independencia
Nombre y Apellidos del Beneficiario	Agustina Ventre Lespiaucq
Datos de contacto: e-mail y teléfono	aguslepiaucq@gmail.com +34 600217419
Departamento/Instituto/Grupo de Investigación/Otros	Departamento de Ecología, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid. Grupo de Ecología Evolutiva Vegetal y Restauración Ecológica.
Dirección, código postal, provincia	Calle Hierro 6C, Bajo A, 28045, Madrid.

2. Memoria Técnica. Actividades y resultados de investigación

2.1. Introducción (Planteamiento, objetivos y justificación)

Objetivos de investigación

El objetivo general fue investigar cómo varían los rasgos de raíz, tallo y hoja de orquídeas epífitas a lo largo de un gradiente de humedad en una zona de transición entre el bosque seco tropical y los bosques montanos de las cordilleras de los Andes en Colombia. En la práctica, el gradiente de humedad se sustituyó por un gradiente vertical de radiación solar, por estar correlacionado con la temperatura y humedad del aire (Kumagai *et al.* 2001) y ser su cuantificación más operativa en las condiciones de estudio. El objetivo general se abordó a través de dos objetivos particulares:

1) Determinar cómo se correlacionan los rasgos de raíz con los de tallo y hojas. Se esperaba que los rasgos morfológicos y anatómicos de las hojas, tallo y raíces tiendan a aumentar conjuntamente la eficiencia de la captura, uso y almacenamiento de recursos a medida que la disponibilidad de luz disminuye. Este objetivo ha sido reemplazado por el siguiente:

Determinar en qué medida los rasgos anatómicos de hoja, tallo y raíz contribuyen a la separación de nicho a escala fina (es decir, entre individuos cercanos). Se espera que a igualdad de rasgos morfológicos (ej. área foliar específica), los rasgos anatómicos revelen diferencias en la capacidad de capturar recursos, y así obtener pistas sobre qué procesos están regulando la coexistencia de orquídeas epífitas dentro del forófito.

2) Investigar si la variación vertical de radiación solar funciona como un filtro ambiental en la estructuración de las comunidades de orquídeas epífitas. Si esto se confirma, entonces los ajustes en los rasgos de respuesta a la luz tendrían un valor adaptativo. Alternativamente, si no se encuentran correlaciones entre los rasgos y el ambiente, entonces otros factores estarían gobernando el ensamblaje de comunidades de orquídeas epífitas.

2.2. Descripción de la ejecución- Metodología

Metodología general

El trabajo de campo fue realizado por A. Ventre-Lespiauq y Nhora Helena Ospina (PUJ-Cali) entre octubre y diciembre de 2017 en dos localidades de bosque de transición seco-húmedo separadas 6 km entre sí: finca La Hondonada (LH; 3.828399, -76.431814) a 1650 m de altitud y Reserva Natural Bosque de Yotoco (RNB; 3.875598, -76.436136) a 1700 m. Las localidades se encuentran en la vertiente oriental de la Cordillera Occidental de los Andes, en el suroeste de Colombia.

Se realizó un muestreo preferencial centrado en las características del forófito (Wolf *et al.* 2009), priorizando que el diámetro a la altura del pecho estuviese entre 20 y 40 cm para reducir las diferencias en las comunidades de orquídeas epífitas debidas a efectos del tamaño del forófito (Woods 2017). Se intentó hallar al menos dos forófitos de cada especie para contralorar por la especificidad por el forófito que presentan algunos taxones de orquídeas epífitas. En cada localidad se encontraron nueve forófitos que cumplieran estas condiciones (18 en total).

El tronco se dividió en cinco estratos verticales a 1, 3, 6, 8 y 10 m accesibles mediante la técnica de escalada de una cuerda. Se cuantificó el gradiente vertical de radiación fotosintéticamente activa (PAR, $\text{mmol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) tomando tres fotografías hemisféricas en cada estrato y se muestrearon comunidades de orquídeas epífitas en los cinco estratos en toda la circunferencia del fuste. En cada estrato se realizó un muestreo destructivo, en el que se

seleccionaron de 1 a 3 individuos de cada especie. Los individuos se recogieron lo más completos posible (parte verde y raíces). En total, el set de datos obtenidos comprende 528 individuos pertenecientes a 34 especies de orquídeas epífitas, de las cuales 7 aparecieron en al menos cuatro estratos, mientras que 18 aparecieron sólo en uno o dos estratos. Estas diferencias de distribución vertical permitirán obtener patrones de variación intra- e inter-específica a lo largo del gradiente de luz del bosque.

De cada individuo se cuantificaron rasgos de planta completa (número de hojas, número de tallos o pseudobulbos y altura total de la parte verde), así como rasgos cualitativos como el hábito (simpodial, monopodial, erecto, péndulo, cespitoso) y el tipo de tallo (pseudobulbos, ramicaules, ausencia de tallo y presencia de rizomas y estolones). De cada planta se extrajeron dos unidades modulares consistentes en un fragmento de raíz, tallo y hoja maduros y sin signos visibles de depredación, infección y senescencia. Cada unidad modular se destinó a uno de los dos objetivos del estudio.

Metodología por objetivo de investigación

Objetivo 1: Se prepararon muestras de tejido para realizar análisis anatómicos a partir de cortes transversales de tejido incluido en parafina (Cutler 1978). Se cortaron fragmentos de hoja, tallo y raíz menores a 1 cm, que se fijaron químicamente para luego ser transferidos a una solución de mantenimiento para su conservación. Los cortes histológicos y análisis de datos del objetivo 1 se llevarán a cabo en una segunda fase del proyecto entre 2018 y 2019.

Objetivo 2: Se cuantificaron seis rasgos foliares morfológicos. Se seleccionó una hoja por individuo y se midió el peso fresco, el grosor, el área y el peso seco. A partir de estas medidas se obtuvo el área foliar específica y se estimó el grado de succulencia foliar. Adicionalmente, se extrajo clorofila foliar y se cuantificó la concentración de clorofilas a, b y el ratio a:b.

2.3. Resultados obtenidos (cumplimiento de objetivos)

Cuando escribí este proyecto, tenía en mente alcanzar tres objetivos de ejecución generales: (1) recolectar datos para responder a las preguntas de investigación, (2) reforzar la colaboración entre investigadores iberoamericanos, (3) poner el conocimiento resultante de este proyecto a disposición de la sociedad.

El primer objetivo se desarrolló con éxito. Se esperaba ejecutar la fase de campo en cuatro meses y dedicar un mes al análisis de datos. Los resultados han superado las expectativas, dado que el trabajo de campo y laboratorio pudo realizarse en los tres meses que duró mi estancia en la Pontificia Universidad Javeriana de Cali. El análisis de datos se encuentra en fase de exploración. No obstante, hubo un cuello de botella inesperado para la consecución del objetivo 1 de investigación (separación de nicho), debido a la falta de disponibilidad del personal cualificado y/o infraestructura para realizar los cortes histológicos. Actualmente, las 490 muestras recogidas para este fin se hallan en Colombia conservadas bajo la supervisión de la Prof. Nicola Flanagan (PUJ), IP del grupo de investigación de orquídeas y colaboradora en este proyecto, a la espera de poder ser procesadas. Se está intentando resolver este contratiempo por dos vías: establecimiento de nuevos contactos dentro del territorio colombiano, y tramitación permisos de exportación de material biológico para poder continuar esta etapa en España.

(2) El objetivo de reforzar la colaboración con investigadores de latinoamérica se ha cumplido satisfactoriamente. Además de haber colaborado estrechamente con las investigadoras Nhora Helena Ospina y Nicola Flanagan, durante mi estancia en Cali se ha gestado la idea de redactar un proyecto conjunto para continuar el presente estudio. El objetivo a medio plazo consiste en abrir una línea de investigación de comunidades de orquídeas epífitas dentro del grupo de investigación de orquídeas.

(3) La divulgación de resultados se irá realizando a medida que se vayan obteniendo resultados.

2.4. Conclusiones y valoración de la ejecución

-Los objetivos específicos del proyecto se cumplieron de forma satisfactoria considerando el tiempo y los costes previstos.

-La principal limitación que se presentó en la ejecución fue la falta de medios/personal para la realización de los cortes histológicos, lo que impidió la culminación del objetivo 1 de investigación en el tiempo previsto. No obstante, esta limitación está en vías de resolución. Adicionalmente, el objetivo 2 se ha cumplido en tiempo y forma.

-La participación de las colaboradoras en Colombia facilitó la ejecución del proyecto en la medida en que aportaron permisos de recolección de material, conocimiento de las localidades y especies de estudio, e infraestructura para el desarrollo de estudios de laboratorio. Estas

aportaciones permitieron la superación de las metas antes del tiempo programado y a un menor costo de lo previsto inicialmente para estas actividades.

-Finalmente, mi papel como investigadora principal del proyecto ha contribuido a aumentar mi capacidad para liderar proyectos de investigación, por lo que considero que ha tenido un impacto muy positivo en mi formación y lo tendrá en mi carrera profesional.

2.5. Publicaciones resultantes

Se espera una publicación SCI derivada de la consecución del objetivo 1 y dos publicaciones SCI a partir del objetivo 2.

3. Informe de gastos del proyecto. Relación de partidas de gastos y sus importes. Se deberán aportar justificantes originales de los pagos realizados (tickets, recibos o facturas).

Debido a que se consiguieron fuentes de financiación adicionales para abonar los billetes de avión, el presupuesto destinado inicialmente a éstos se asignó a otros gastos (Tablas 1 y 2). Principalmente se invirtió en análisis genéticos (*barcoding*) de plantas y a la compra de material, siendo los más costosos los elementos de escalada y seguridad en campo. La compra de material de escalada no estaba prevista, puesto que la Universidad cuenta con equipo propio. No obstante, algunos componentes no estuvieron disponibles durante todo el periodo de muestreo, por lo que la adquisición de los mismos se tornó necesaria para la consecución de los objetivos previstos.

Las facturas escaneadas se muestran en la carpeta adjunta, junto con un libro de Excel que contiene el detalle de los gastos. Se aportan todos los justificantes originales excepto el de los análisis de secuenciación correspondientes a 86 individuos colectados en las localidades de estudio por Nhora Helena Ospina y Nicola Flanagan dos meses antes de la ejecución de este proyecto. Se aporta una factura por valor de 203 € (249 USD) escaneada, ya que el original debe ser presentado por las investigadoras ante su institución, que fue quien gestionó la exportación del material al país de análisis. La información derivada de estos análisis ayudará a identificar las especies de estudio correctamente.

Tabla 1 Presupuesto proyectado a septiembre de 2016.

Concepto	Precio/persona y mes (€)	Coste estimado (€)	Entidad financiadora
Billetes de avión Madrid - Cali ida y vuelta	-	1200	AEET
Transporte	80	320	AEET
Dietas	100	400	AEET
Alojamiento	130	520	AEET
Material de campo		50	AEET
Material de laboratorio		100	PUJ
Transporte, dietas y alojamiento de ayudante de campo		280	PUJ
Total solicitado a la AEET		2490	

Tabla 2 Presupuesto ejecutado a diciembre de 2017.

Concepto	Coste (€)	Entidad
Billetes de avión Madrid - Cali ida y vuelta	-	Otros
Transporte*	295.5	AEET
Dietas*	929.7	AEET
Alojamiento*	639.3	AEET
Material de campo	434.02	AEET
Análisis material	203.26	AEET
Material de laboratorio	350	PUJ
Total utilizado de la AEET	2501.78	
*incluye uno o dos ayudantes de campo		

Referencias

- Cutler DF (1978)** Applied plant anatomy. Longman Inc. NY.
- Kumagai T, et al. (2001)** Vertical profiles of environmental factors within tropical rainforest, Lambir Hills National Park, Sarawak, Malaysia. *Journal of Forest Research*, **6**: 257–264.
- Wolf JHD, Gradstein SR, Nadkarni NM (2009)** A protocol for sampling vascular epiphyte richness and abundance. *Journal of Tropical Ecology*, **25**: 107-121.
- Woods C (2017)** Primary ecological succession in vascular epiphytes: The species accumulation model. *Biotropica*, **49**: 452–460.

