Convocatoria AEET-SIBECOL de ayudas a proyectos de investigación ERC en ecología (9ª ed., 2019)

1. Datos de identificación.

Título de la propuesta	Coexistencia y comunicación química entre plantas en respuesta a herbivoría por insectos (CoVOCom)
Categoría	Tomando la iniciativa
Nombre y apellidos del Beneficiario	Rodrigo Rodríguez Granjel
Datos de contacto: e-mail y teléfono	granjel@gmail.com; +34 667 04 86 44
Departamento/Instituto/Grupo de Investigación/Otros	Departamento de Biología Vegetal y Ecología, Universidad de Sevilla; grupo EVOCA
Dirección, código postal, provincia	Avda. Reina Mercedes, 6, 41012 - Sevilla

2. Memoria Técnica. Actividades y resultados de investigación

2.1. Introducción (planteamiento, objetivos y justificación)

La comunicación química aérea entre plantas en respuesta al daño ocasionado por insectos herbívoros y patógenos es un fenómeno que ocurre cuando una planta no dañada (planta receptora) reconoce y responde a la emisión de compuestos orgánicos volátiles (VOCs) emitidos por una planta vecina atacada (planta emisora). Esta respuesta en las plantas receptoras involucra un fenómeno conocido como *priming*, en el que las plantas preparan (pero no activan) sus mecanismos defensivos para así responder más rápida y eficazmente al ataque de herbívoros una vez que este ocurre. La comunicación química entre plantas ha sido identificada mediante estudios de campo y laboratorio en más de 30 especies vegetales.

A pesar de ser un fenómeno común, sus consecuencias para la dinámica de la comunidad vegetal permanecen inexploradas. Para este propósito, la teoría moderna de coexistencia (TMC) de especies ofrece un marco conceptual único para entender los mecanismos (diferencias de nicho y capacidad competitiva entre especies) por los que la comunicación entre plantas podría afectar al mantenimiento de la biodiversidad.

El objetivo general de este proyecto fue evaluar cómo la comunicación química entre plantas en respuesta a la herbivoría por insectos podría afectar a la coexistencia de diferentes especies vegetales, así como determinar los mecanismos subyacentes a este fenómeno. Para lograr esto, se propusieron los siguientes objetivos específicos:

1. Cuantificar la competencia intra e interespecífica de las plantas mediante la parametrización de un modelo de dinámica poblacional de plantas anuales bajo dos tratamientos en las plantas emisoras: inducción de VOCs en respuesta al ataque de un insecto herbívoro y control.
2. Identificar y cuantificar los VOCs implicados, así como la efectividad de la comunicación entre las distintas especies de plantas.
3. Utilizar el marco teórico de TMC para calcular los determinantes de coexistencia y predecir el efecto de la comunicación química en la comunidad.
4. Entender cómo la eficacia y el tipo de comunicación (conespecífica o heteroespecífica) interactúan con la competencia intra e interespecífica para determinar la coexistencia de especies.

2.2. Descripción de la ejecución-metodología

El proyecto proponía un experimento de invernadero, a desarrollar en la Misión Biológica de Galicia (MBG-CSIC), con cuatro especies de plantas anuales autógamas de la familia Brassicaceae. Este experimento, consistente en exponer cada una de las plantas focales a un gradiente de densidad de vecinos (conspecíficos y heterospecíficos) y a un tratamiento de inducción de volátiles mediante herbivoría por una larva de lepidóptero, requería de un esfuerzo de trabajo y de unos plazos concretos establecidos para el año 2020, y diseñados en época anterior al inicio de la pandemia mundial de SARS-CoV-2 en función a los recursos humanos y materiales previsibles en dicho momento. Sin embargo, la irrupción de la COVID-19, con los períodos de aislamiento y las diferentes restricciones marcadas por las entidades gubernamentales para frenar el avance de la enfermedad, hicieron imposible la ejecución del proyecto en el año 2020, como así estaba planteado. Esto se debió, entre otros motivos, a que no se pudo recolectar las semillas necesarias en campo en la época primaveral de 2020. En el año 2021 fue necesario replantear los objetivos del proyecto para adaptarlos a la disponibilidad de recursos de personal y tiempo disponibles.

Los nuevos objetivos de 2021 mantuvieron el apartado de comunicación entre brasicáceas en respuesta a herbivoría, pero excluyeron el análisis de las consecuencias de dicha comunicación para el mantenimiento de la biodiversidad, ya que era precisamente este apartado el que demandaba un experimento más voluminoso, con diferentes especies y un gradiente de densidad de vecinos. Así, lo que finalmente llevé a cabo fue un experimento en el que utilicé la brasicácea *Arabidopsis* thaliana para determinar diferencias en su capacidad de comunicación en función de sus condiciones genotípicas y su población de procedencia.

Diseñé un experimento en el que sometí a un tratamiento de inducción de compuestos orgánicos volátiles (VOCs) mediante un herbívoro (larva de *Spodoptera*) a 15 genotipos de 2 poblaciones naturales diferentes (un total de 30 genotipos), y así evaluar la respuesta a herbivoría de una planta receptora, del mismo genotipo y población, tras haber estado expuesta (o no) a los volátiles de la emisora. Esto resultó en un total de 160 pares de plantas, de las cuales se obtuvieron muestras de VOCs y se realizaron fotografías de las diferentes etapas (pre- y post-consumo por herbívoro) para determinar el daño ejercido por el herbívoro. En definitiva, el nuevo experimento continuó suponiendo una gran carga de trabajo, pero su realización por una sola persona fue mucho más factible que el experimento inicialmente planteado en el presente proyecto.

2.3. Resultados obtenidos (cumplimiento de objetivos)

Por el momento, los resultados de los que se disponen son los derivados directamente de la ejecución del experimento; sin embargo, los datos finales de composición química de los volátiles recolectados todavía no están disponibles y se esperan en fechas próximas, lo que permitirá analizar qué diferentes especies de compuestos químicos están involucradas en la defensa inducida en diferentes genotipos y poblaciones de *Arabidopsis thaliana*. Asimismo, dado que disponemos de información genotípica de las diferentes plantas, también podremos estudiar qué combinaciones de genes son responsables de dicha inducción de defensas por medio de volátiles en respuesta a herbivoría por insectos.

Los resultados preliminares nos indican que, en términos generales, las plantas de *A. thaliana* expuestas a individuos sometidos a herbivoría sufrieron menor daño en un evento de herbivoría posterior, probablemente debido a la inducción de la producción de compuestos de defensa a través de la información recibida por medio de compuestos orgánicos volátiles emitidos por la planta vecina atacada ($p < 0,05$; Fig. 1).

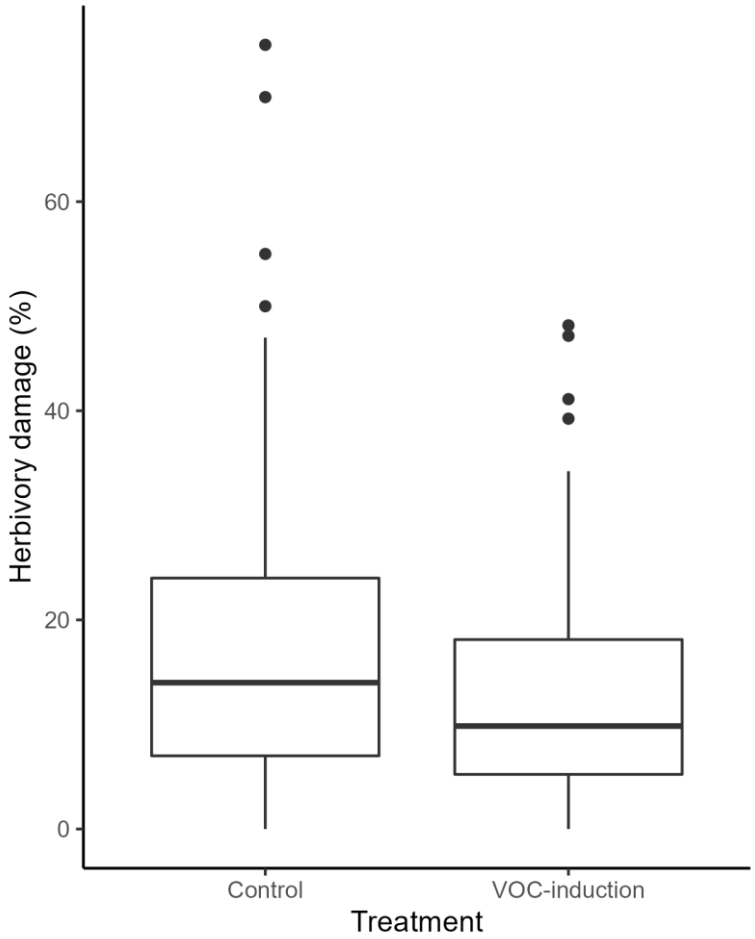

Figura 1. Porcentaje de herbivoría sufrido por plantas de *Arabidopsis thaliana*, sometidas a la larva de *Spodoptera* sp., en dos tratamientos: control (con vecinas no atacadas por el herbívoro) e inducción por COVs (compuestos orgánicos volátiles emitidos por una planta vecina sometida a un evento de herbivoría).

De forma importante, estos efectos cambiaron en magnitud y variabilidad entre las dos poblaciones estudiadas (Fig. 2), indicando posibles efectos específicos en la comunicación según la procedencia de los individuos estudiados.

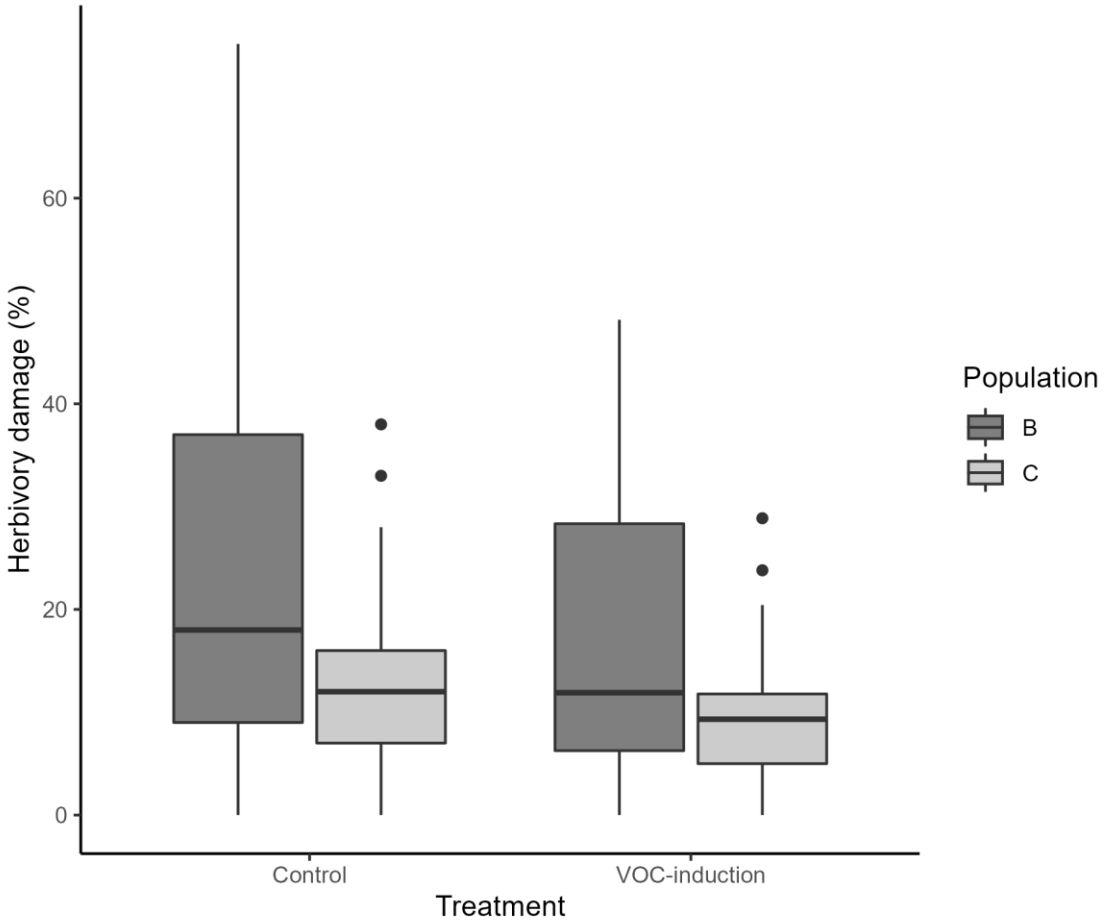

Figura 2. Porcentaje de herbivoría sufrido por plantas de *Arabidopsis thaliana* de dos poblaciones diferentes, sometidas a la larva de *Spodoptera* sp., en dos poblaciones y tratamientos: control (con vecinas no atacadas por el herbívoro) e inducción por COVs (compuestos orgánicos volátiles emitidos por una planta vecina sometida a un evento de herbivoría).

Estos resultados fueron consecuentes cuando se observó cada genotipo por separado en cada población, y asimismo se constató el papel de la variabilidad genética intraespecífica a la hora de determinar la capacidad de la comunicación química entre plantas para promover la defensa de las plantas frente a eventos de herbivoría por insectos (Fig. 3).

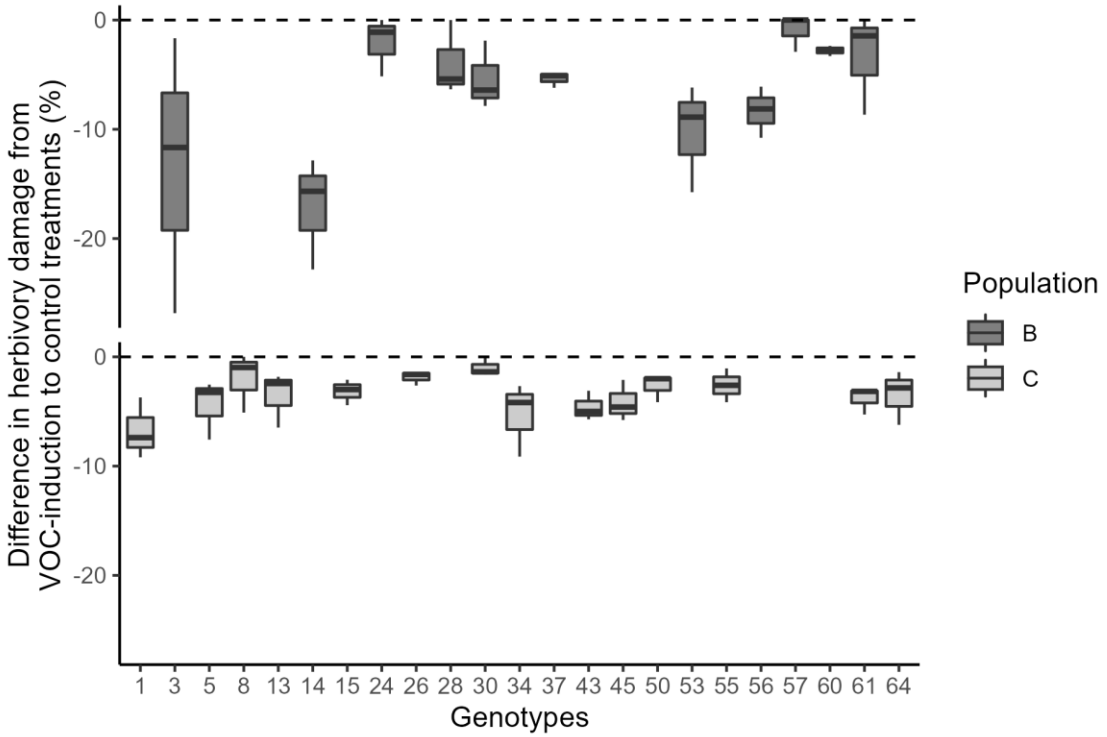

Figura 3. Diferencia en porcentaje de herbivoría sufrido en plantas de *Arabidopsis thaliana* entre un tratamiento de inducción por COVs (compuestos orgánicos volátiles emitidos por una planta vecina sometida a un evento de herbivoría) y un control (con vecinas no atacadas por el herbívoro). Valores negativos indican una menor herbivoría en el tratamiento de inducción por COVs que en el control. Las plantas pertenecen a dos poblaciones diferentes y la identidad de los genotipos tiene correspondencias directas entre ambas poblaciones.

Futuros análisis teniendo en cuenta los datos genéticos y de volátiles emitidos por cada genotipo y población nos ayudarán a comprender los mecanismos que subyacen a estas diferencias en comunicación que se producen entre plantas de *A. thaliana*.

2.4. Conclusiones y valoración de la ejecución

He tenido que adaptarme, tanto científicamente como presupuestariamente, a la nueva realidad generada por la combinación de una tesis doctoral en curso en medio de la pandemia de COVID-19. Los objetivos iniciales por los cuales se me concedió este proyecto eran realmente atractivos y cubrían un hueco de conocimiento, en mi opinión, fundamental en nuestra comprensión de los mecanismos por los que la herbivoría afectan al mantenimiento de la biodiversidad; por todo esto planteé el proyecto inicialmente. Sin embargo, en vista de la situación, mucho menos favorable que la prevista para la ejecución

del proyecto, creo que he sabido utilizar los recursos que se me han otorgado y la confianza depositada en mí por la AEET para plantear nuevos objetivos que, si bien no profundizan en los mecanismos de mantenimiento de la biodiversidad, sí nos aportan una clara idea de cuán variables (entre genotipos y entre poblaciones) pueden ser estos mecanismos químicos que hacen que las plantas detecten una amenaza en su entorno y aumenten sus defensas mucho antes de que ocurra el evento de herbivoría.

2.5. Publicaciones resultantes

Todavía no se han realizado publicaciones derivadas de este proyecto.

3. **Informe de gastos del proyecto.**

Ítem	Propósito	Cuantía (€)
Sacos de rafia	Transporte e infraestructura	49,50
Tarrinas de plástico	Infraestructura experimento	22,15
Tablones de madera	Infraestructura experimento	151,01
Cajas de acetato	Infraestructura experimento	72,07
Filtros de carbono	Recogida de volátiles	333,11
Tableta electrónica	Fotografía y análisis de imágenes vía LeafByte	943,66
Mensajería	Transporte de muestras	201,70
Servicio de análisis	Procesamiento de muestras	232,00

Total = 2.005,20€. Las facturas correspondientes se acompañan en un documento adicional.

Fdo.: Rodrigo Rodríguez Granjel,

Firmado por RODRIGUEZ GRANJEL RODRIGO - ***1705** el día 12/04/2022 con un certificado emitido por AC FNMT Usuarios

en Sevilla, a 12 de abril de 2022