

# Lucha por la supervivencia y origen de la biodiversidad tropical: interacciones entre plantas y herbívoros

Paola G. Santacruz<sup>1,2</sup>, María-José Endara<sup>3</sup>, Rommel Montúfar<sup>1</sup>, Rafael E. Cárdenas<sup>1</sup>, Alix Loziquez<sup>1,2</sup>, Renato Valencia<sup>1</sup>, Thomas L.P. Couvreur<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, <sup>2</sup> DIADE, Univ Montpellier, CIRAD, IRD, Montpellier, France

<sup>3</sup> Grupo de Investigación en Biodiversidad, Medio Ambiente y Salud-BIOMAS Universidad de las Américas.

(paolasantacruzendara@gmail.com) (maria.endera.burbano@udla.edu.ec) (rjmontufar@puce.edu.ec) (recardenas@puce.edu.ec) (alixloz@hotmail.fr) (rvalencia@puce.edu.ec) (thomas.couvreur@ird.fr)

**E**n la naturaleza existen dos tipos de organismos: las presas y sus predadores. Dentro de este tipo de interacción se habla muy poco de la relación entre las plantas y sus herbívoros. Tanto para los grandes primates como para las pequeñas orugas que terminan su proceso de metamorfosis en la planta, la relación es la misma, donde las plantas asumen el rol de presa, y los herbívoros el de depredador.

Los bosques tropicales húmedos son el ecosistema más biodiverso y complejo del planeta. Ecuador es famoso por tener uno de los bosques más diversos en especies de árboles a nivel mundial, con más de 600 especies reportadas en solo una hectárea en el Parque Nacional de Yasuní (Valencia *et al.* 1994) (Fig. 1). ¿Por qué hay tantas especies en los bosques tropicales, y cuáles son los mecanismos evolutivos responsables? Son dos de las más grandes preguntas de la biodiversidad tropical que quedan todavía por responder. Un grupo de hipótesis propone que la biodiversidad tropical es el resultado justamente de las interacciones



Por Thomas L.P. Couvreur

**Figura 1:** Vista aérea de la parcela dinámica de 50 ha de la PUCE en Yasuní. ¿Por qué hay tantas especies en los bosques tropicales?

intensas entre plantas y sus insectos herbívoros (Ehrlich and Raven 1964, Endara *et al.* 2017), los cuales mantienen una constante carrera evolutiva de ataque y defensa (Fig. 2).

La relación de la planta con sus insectos herbívoros ha sido bastante estudiada (Ehrlich and Raven 1964, Marquis *et al.* 2016, Coley *et al.* 2018). Igual que en una guerra, las plantas hacen uso de todos los recursos posibles para escapar de sus depredadores. Utilizan diversas defensas químicas conocidas como metabolitos secundarios, que pueden incluir alcaloides, terpenos, acetogeninas, esteroides, entre otros (Menezes *et al.* 2021). Estos compuestos químicos son particularmente abundantes en las hojas

jóvenes en expansión. Su mecanismo de acción incluye el intoxicar a quienes lo ingieren, o interferir con la capacidad de digerir los tejidos vegetales consumidos por parte del herbívoro. Y si las armas químicas no fueran suficientes, las plantas



Por Thomas L.P. Couvreur

**Figura 2:** Pablo Alvia mirando una oruga de Arctiidae que se come a la hoja de un individuo de *Anaxagorea brevipes* (Annonaceae) en la parcela de Yasuní, y una de las especies monitoreadas durante el proyecto.

también tienen defensas físicas, como la dureza de la hoja, que evita que el herbívoro pueda masticala; y/o la presencia de tricomas (pelos) que pueden cubrir las ramas, troncos y hojas de algunas especies. Los tricomas complican el recorrido de quienes lo habitan, haciendo necesario el uso de la seda en algunas ocasiones como método de movilización. Finalmente, hay plantas que reclutan la ayuda externa de animales como las hormigas, aliados que puedan defenderlas contra los herbívoros a cambio de protección, una casa, una comida fácil. Este es el caso famoso, por ejemplo, de las guabas (género *Inga*), árboles cuyas hojas poseen nectarios que alimentan a hormigas, y estas a su vez les proveen de defensa contra otros insectos que puedan alimentarse de la planta (Coley & Barone 1996).

Pero, ¿cómo una simple interacción puede promover la diversificación de la biodiversidad en los bosques tropicales? Existe una hipótesis inspirada en el cuento de fantasía de “A través del espejo y lo que Alicia encontró allí” de Carroll Lewis (1871). En el cuento, Alicia está corriendo con la Reina Roja pero no avanza. Cuando le pregunta Alicia por qué no se mueven aunque están corriendo, la Reina Roja le contesta: “[...] porque se necesita correr tanto como puedas para mantenerte en el mismo lugar”. En biología evolutiva, la idea es que cada adaptación en una especie es igualada por una contra-adaptación en la especie con la que interactúa, de tal manera que cambios evolutivos perpetuos deben mantenerse entre ambas especies para permitir la existencia (Van Valen 1973). La denominada hipótesis de la Reina Roja es considerada una de las teorías evolutivas más influyentes. En el caso de los bosques tropicales, la continua y

rápida evolución de nuevos metabolitos secundarios podría permitir que las especies de plantas escapen a la presión de los herbívoros, lo que conduciría a una importante ventaja selectiva que estimularía la diversificación (Marquis *et al.* 2016). Pero, al mismo tiempo, los herbívoros van a adaptarse a esos cambios para seguir comiendo las hojas. Es una carrera evolutiva. Bajo esta hipótesis de la Reina Roja, las modificaciones entre especies cercanas van a ser pequeñas y graduales.

### El modelo de estudio

Con el fin de comprobar estas hipótesis al nivel de los bosques tropicales del mundo, y más específicamente en la Amazonía ecuatoriana (Fig. 1) escogimos a la familia Annonaceae, muy conocida en América Latina. Con seguridad la reconoces, porque de ella forman parte las deliciosas chirimoyas (*Annona cherimola*) y guanábanas (*Annona muricata*). Se encuentra distribuida en todas las selvas tropicales del mundo y son dominantes en tierras bajas de los trópicos donde se originaron unos 90 millones de años atrás (Couvreur *et al.* 2011). Incluye árboles, arbustos y lianas, que se distribuyen en 113 géneros y alrededor de 2550 especies (Fig. 3). Lo interesante de esta familia es que las especies tienen hojas ricas en metabolitos

secundarios tales como los alcaloides (Menezes *et al.* 2021), pues tienen usos importantes en medicina tradicional a través de los trópicos como fuente importante de sustancias insecticidas. Estos compuestos dan forma a las interacciones entre las Annonaceae y sus enemigos naturales. Por lo tanto, gracias a su diversidad, origen antiguo y diversidad de metabolitos, las Annonaceae constituyen una familia interesante para comprobar hipótesis de coevolución entre plantas y herbívoros en los trópicos, tanto a nivel local como global. Como siempre en ciencia, hay primero que observar y recolectar datos básicos para saber qué herbívoros atacan a las Annonaceae, y determinar cómo esas plantas se defienden, algo sobre lo que sabemos muy poco hasta ahora.



**Figura 3:** Ejemplo de especies de Annonaceae para nuestro estudio y sus interacciones. A: *Tetrameranthus globulifer*; B: *Duquetia hadrantha*; C: *Guatteria multivenia*; D: Larva de Arctiidae (mariposa) comiendo *Guatteria scalarinervia*.

Por Thomas L.F. Couvreur

## Yasuní: laboratorio a escala real

La investigación empezó a nivel local, en uno de los lugares más biodiversos del planeta, en el Parque Nacional Yasuní. En 1995, Renato Valencia, Profesor Investigador de la PUCE, estableció una parcela de 50 hectáreas para estudiar la dinámica del bosque de Yasuní (Valencia *et al.* 2004). En la parcela se han identificado 1150 especies de árboles y arbustos y alrededor de 300 000 tallos identificados y referenciados. Renato abrió las puertas de la parcela para estudiar la herbivoría de Annonaceae. Para nuestro estudio, y en base a estos datos, pudimos seleccionar nueve especies de árboles de Annonaceae (Tabla 1). Nos enfocamos en individuos del sotobosque por la facilidad para realizar observaciones. La lista de especies elegidas representa la diversidad evolutiva de la familia, con especies muy cercanas (del mismo género), un poco más distantes (de tribus diferentes) o muy distantes (de cada uno de las cuatro subfamilias). Con esto, conseguimos realizar un muestreo evolutivo amplio de las relaciones existentes dentro

de la familia. ¡Y lo más increíble es que toda esta diversidad evolutiva mayormente se encuentra dentro de la misma parcela de Yasuní! Esto quiere decir que las diferencias que encontremos se explicarían por motivos ajenos al clima o la geografía.

Para cada especie seleccionamos 10 individuos en los cuales tomamos medidas y observaciones. Eso nos permite tener una fuerza estadística mínima. En cada árbol realizaremos una serie de observaciones una vez por mes durante un año.

## Herbívoros

El primer paso es observar y buscar a los herbívoros (Fig. 2, Fig. 4). Eso toma tiempo porque hay que manipular las plantas con delicadeza evitando que los herbívoros caigan al piso. Al principio de nuestra investigación no encontrábamos herbívoros, lo cual fue muy frustrante. ¿Dónde se esconden? Pero en biología, “Quien tiene paciencia, obtendrá lo que desea”, y después de algunos meses, empezaron a aparecer.

Hoy en día hemos observado herbívoros en todas las especies que monitoreamos. Pero, la identifica-



**Figura 4:** Investigadora Dra. María-José Endara y doctorante Paola Santacruz en el campo en la parcela dinámica de Yasuní (PUCE) observando las especies de Annonaceae y sus herbívoros.

ción de orugas de mariposas tampoco es algo fácil (Figura 3D). Así que se hará con herramientas moleculares y utilizando su ADN. Los resultados preliminares indican que hay una temporalidad en la presencia de herbívoros en las Annonaceae de Yasuní, ya que en enero y febrero de 2022 hemos encontrado mucho más que en meses anteriores. Eso coincide con la temporada menos lluviosa en Yasuní. También hemos observado colonias de varias especies de hormigas que protegen a las plantas, como es el caso de algunos individuos de *Unonopsis veneficiorum*.

## Rasgos morfológicos.

Después de haber observado los herbívoros, miramos a la planta en sí, para ver si las hojas están comidas (dañadas), cuál es la prevalencia de hojas jóvenes y si las hojas tienen alguna defensa física como tricomas (pelos). De manera general hemos encontrado que la herbivoría promedio (medido como el porcentaje de la superficie dañada o comida de la hoja) es baja pero heterogénea (Tabla 1). Las especies con mayor daño son *Anaxagorea brevipes* y *Unonopsis veneficiorum*. La producción de muchas hojas jóvenes en un tiempo específico puede representar

**Tabla 1:** Nombres de las especies de Annonaceae seleccionadas para el estudio y su clasificación dentro de la familia, con el promedio de tricomas por cm<sup>2</sup> y el porcentaje promedio de la superficie de la hojas comidas (promedio de 6 hojas medidos al azar por individuo por especies).

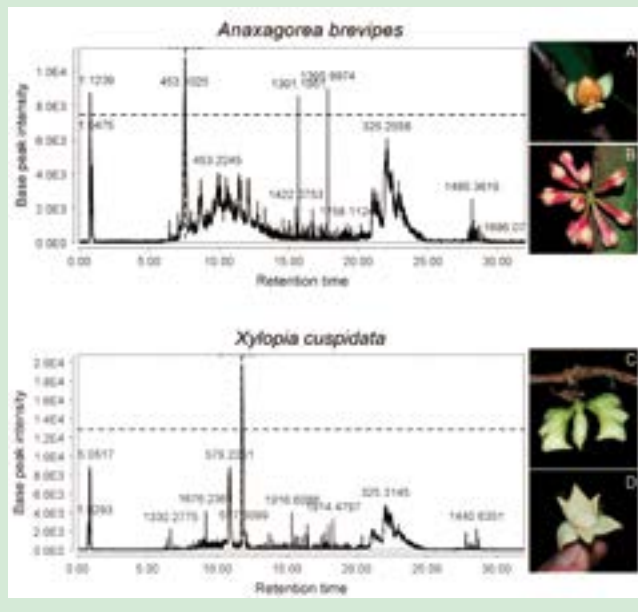
Subfamilia	Tribu	Género	Epíteto	Promedio de tricomas/cm <sup>2</sup> (# total de individuos medidos)	Promedio de daño en hojas (# total de individuos medidos)
Anaxagoreoideae		<i>Anaxagorea</i>	<i>brevipes</i>	59,4 (9)	10,30 (11)
Ambavioideae		<i>Tetrameranthus</i>	<i>globulifer*</i>	NA (NA)	1,59 (11)
Annonoideae	Duguetieae	<i>Duguetia</i>	<i>hadrantha</i>	26,6 (6)	1,16
	Guatterieae	<i>Guatteria</i>	<i>multivenia</i>	134,4 (10)	0,68 (11)
	Guatterieae	<i>Guatteria</i>	<i>scalarinervia</i>	5,3 (9)	0,10 (11)
	Bocageae	<i>Trigynaea</i>	<i>triplinervis</i>	140,2 (5)	3,80 (7)
	Xylopieae	<i>Xylopia</i>	<i>cuspidata</i>	79 (12)	3,75 (12)
Malmeoideae	Malmeae	<i>Oxandra</i>	<i>riedeliana</i>	4 (6)	8,1 (8)
	Malmeae	<i>Unonopsis</i>	<i>veneficiorum</i>	38,8 (5)	0,50 (12)



una estrategia que busca escapar de los herbívoros al saciarlos, llamada “leaf flush” en inglés (Coley *et al.* 2018). La planta va a producir más hojas que las que pueden ser comidas por las orugas, así las hojas sobrevivientes crecerán hasta su estado maduro, como fue demostrado en el género *Inga* (Endara *et al.* 2017). Hasta ahora, no hemos visto esa estrategia en Annonaceae, con hojas jóvenes presentes de manera más o menos continua a través del tiempo para cada especie. Una estrategia alternativa es que todos los individuos de una población producen algunas hojas jóvenes (sincronía en la producción de hojas) al mismo tiempo, así los herbívoros comen un poco de cada individuo y no mucho de unos pocos. Eso queda por comprobar. Finalmente, hemos observado una gran variación de tricomas en las hojas jóvenes (Tabla 1) y ausencia de glándulas. Hay especies que son muy peludas (*Guatteria multivenia*) y otras que son casi glabras (*Oxandra riedeliana*). De manera preliminar, estos datos sugieren variaciones en las estrategias de defensas morfológicas de las Annonaceae a escala local.

### Química de las Annonaceae

Una última etapa consiste en analizar la composición de metabolitos secundarios en las hojas, para ver si hay diferencias o no. Para cada especie, hemos recolectado ~100 mg de hojas jóvenes y maduras para extraer el perfil cromatográfico. Es un largo proceso que empieza en el campo y acaba en el laboratorio donde molem las hojas secas, extraemos los compuestos químicos y finalmente visualizamos los perfiles cromatográficos de los metabolitos secundarios. Para este proyecto, hemos visualizado el perfil de más de 150 muestras no solo de las especies focales (~20 muestras por especie)



Por: Thomas L.P. Couvreur

**Figura 5:** Perfiles metabólicos de dos individuos de Annonaceae: *Anaxagorea brevipes* (A: flor; B: fruto) y *Xylopia cuspidata* (C: fruto; D: flor). Pueden ver las diferencias de perfiles, indicando composición diferentes de metabolitos.

sino también otras seis especies de Annonaceae en Ecuador para su comparación. Hasta ahora no hemos analizado las diferencias entre especies, pero de manera muy preliminar se puede ver una gran variación entre perfiles a nivel local (Fig. 5). Además de los metabolitos secundarios vamos a analizar otros rasgos químicos como el contenido en nitrógeno, el carbono y las fibras, que también nos dará indicaciones de las diferentes estrategias de defensa de las Annonaceae hacia los herbívoros.

### Evolución a la escala global

En una segunda etapa, queremos entender la evolución química de toda la familia de Annonaceae a nivel global y no solo local. Utilizar los mismos métodos de laboratorio que explicamos anteriormente para

cada una de las 2550 especies de Annonaceae no es factible, ya que procesar las muestras toma demasiado tiempo. Además, no tenemos disponibles muestras frescas de todas las especies del mundo. La única manera es utilizar el “cofre del tesoro” que representa la red de herbarios mundiales, incluyendo el de la PUCE QCA (Fig. 6). En el proyecto utilizamos un método llamado “Near Infrared spectroscopy” (NIRs) o espectroscopia del infrarrojo cercano para escanear las muestras de herbario y tener una estimación del contenido químico de las hojas de cada especie. Cuando un rayo de luz es propulsado hacia una estructura, las moléculas vibran, y esta vibración resulta en la emisión en una longitud de onda entre la luz visible (400-700 nanómetros (nm)) y la del



Por: Thomas L.P. Couvreur

**Figura 6:** Carlos Rodríguez (IRD) haciendo una demostración del NIRs en el herbario de PUCE (QCA).

infrarrojo cercano (780-2500 nm) característica de la estructura. Esta técnica no es destructora; es decir, no hay que destruir la muestra de herbario, la cual queda intacta. La idea es que podamos comparar los espectros de cada especie utilizando como base la filogenia molecular de todas las especies de Annonaceae del mundo (también un objetivo del proyecto y que se encuentra en desarrollo). Eso nos permitiría comprobar si especies evolutivamente cercanas tienen perfiles NIRs similares (Reina Rojo) o no. Esta fase del proyecto no está culminada, pero los resultados van a ser comparados con los resultados obtenidos a nivel local.

### Perspectivas

Entender el origen de la biodiversidad en los bosques tropicales es un reto mayor, no solo de manera fundamental, sino también para su conservación. Si la interacción entre herbívoros y plantas juega un papel importante para la diversificación de la biodiversidad tropical, entonces hay que conservar no solo las plantas y animales, sino también las interacciones plantas-herbívoros, lo que requiere maneras diferentes de pensar a corto y largo plazo.

Este proyecto también nos enseña la importancia fundamental de la observación de la biodiversidad tropical a largo plazo como en la parcela dinámica de Yasuní (PUCE). Sin la parcela, las observaciones dentro de este proyecto no serían posibles o, al menos, sería mucho más complicado. Finalmente, el proyecto pone en el centro de la investigación al herbario, un recurso esencial para los estudios de la biodiversidad tropical, siendo fuente de datos inmensos. Con innovación tecnológica como la del NIRs, la importancia de los

herbarios aumentará con el tiempo. Los herbarios tienen que ser enriquecidos continuamente, mantenerse activos con fondos necesarios y abiertos para las generaciones futuras.

### Agradecimientos

Agradecemos a Pablo Alvia (parataxónomo del proyecto Dinámica del Bosque de Yasuní) por su ayuda valiosa en el trabajo de campo. Este estudio fue financiado por el proyecto GLOBAL (núm. 865787) del “European Research Council” (ERC) bajo el programa Horizon 2020 de investigación e innovación. Las actividades y resultados forman parte del Laboratorio Mixto Internacional LMI BIO-INCA (IRD, PUCE, UNIANDES-Bogotá). Agradecemos al Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica (MAE) del Ecuador por los permisos de investigación necesarios para este proyecto (MAE-DNB-CM-2019-0115; MAAE-ARSFC-2021-1331; MAE-ARSFC-2020-0473).

### Literatura consultada

Coley PD, Barone JA (1996) Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annual review of ecology and systematics* 27: 305–335.

Coley PD, Endara M-J, Kursar TA (2018) Consequences of interspecific variation in defenses and herbivore host choice for the ecology and evolution of Inga, a speciose rainforest tree. *Oecologia* 187: 361–376. <https://doi.org/10.1007/s00442-018-4080-z>

Couvreux TLP, Pirie MD, Chatrou LW, Saunders RMK, Su YCF, Richardson JE, Erkens RHJ (2011) Early evolutionary history of the flowering plant family Annonaceae: steady diversification and boreotropical geodispersal. *Jour-*

*nal of Biogeography* 38: 664–680. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2010.02434.x>

Ehrlich PR, Raven PH (1964) Butterflies and Plants: A Study in Coevolution. *Evolution* 18: 586–608. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1964.tb01674.x>

Endara M-J, Coley PD, Ghabash G, Nicholls JA, Dexter KG, Donoso DA, Stone GN, Pennington RT, Kursar TA (2017) Coevolutionary arms race versus host defense chase in a tropical herbivore–plant system. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114: E7499–E7505. <https://doi.org/10.1073/pnas.1707727114>

Marquis RJ, Salazar D, Baer C, Reinhardt J, Priest G, Barnett K (2016) Ode to Ehrlich and Raven or how herbivorous insects might drive plant speciation. *Ecology* 97: 2939–2951. <https://doi.org/10.1002/ecy.1534>

Menezes RPB, Sessions Z, Muratov E, Scotti L, Scotti MT (2021) Secondary Metabolites Extracted from Annonaceae and Chemotaxonomy Study of Terpenoids. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 32: 2061–2070. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20210097>

Valencia R, Balslev H, Paz Y Miño C G (1994) High tree alpha-diversity in Amazonian Ecuador. *Biodiversity and Conservation* 3: 21–28.

Valencia R, Condit R, Foster RB, Romoleroux K, Villa Munoz G, Svenning J-C, Magard E, Bass M, Losos EC, Balslev H (2004) Yasuni forest dynamics plot, Ecuador. In: Losos E, Leigh EG Jr (Eds), *Tropical forest diversity and dynamism: findings from a large-scale plot network*. University of Chicago press, Chicago, 609–620.

Van Valen L (1973) A new evolutionary law. *Evolutionary Theory* 1: 1–30.