

RESEÑA TESIS DOCTORAL

TÍTULO DE LA TESIS DOCTORAL

Experimental evaluation of the role of type IV glandular trichomes in tomato plant defence against the aphid *Macrosiphum euphorbiae*.

AUTORA: Lidia Blanco Sánchez.

PROGRAMA DE DOCTORADO: Biotecnología Avanzada - Universidad de Málaga (UMA).

DIRECTORES:

Eduardo de la Peña Alonso (IHSM-CSIC-UMA) y Juan Antonio Díaz Pendón (IHSM-CSIC-UMA).

CENTRO DE TRABAJO Y FINANCIACION: Esta tesis doctoral se ha realizado en el Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea 'La Mayora' (IHSM – UMA- CSIC). El trabajo de Lidia Blanco Sánchez para realizar esta tesis doctoral ha sido financiado por una beca competitiva de la fundación 'La Caixa' (ID 100010434, code: LCF/BQ/DE16/11570012). Asimismo, este trabajo se ha desarrollado bajo el proyecto de investigación concedido a Eduardo de la Peña Alonso por el Ministerio de Economía y Competitividad de España (AGL2015-67733-R).

FECHA Y LUGAR DE LECTURA: 23 de noviembre de 2023. Salón de Actos de la Estación Experimental La Mayora del IHSM (Málaga, España).

COMPOSICIÓN DEL TRIBUNAL: Emilio Benítez León (Presidente), Araceli Castillo Garriga (Secretaria), Pedro Gómez López (Vocal).

CALIFICACIÓN: Sobresaliente *Cum Laude*.

RESUMEN:

Esta tesis aborda el estudio de diversos aspectos relacionados con la interacción entre el tomate (*Solanum lycopersicum*), uno de los cultivos más importantes a nivel mundial, y el pulgón *Macrosiphum euphorbiae*, una de sus plagas más comunes. Con este propósito, se han planteado enfoques experimentales ecológicos como moleculares, con el fin de mejorar la comprensión de esta interacción y sus implicaciones en el manejo y control de plagas.

En primer lugar, se investigó si los niveles de tolerancia y resistencia a diferentes plagas varían en un gradiente de domesticación del tomate. Para ello, se evaluó el comportamiento de 23 genotipos de tomate, que abarcaban desde parientes silvestres hasta cultivares modernos, frente a *Macrosiphum euphorbiae* y la oruga de *Spodoptera littoralis* (herbívoros con estrategias alimentarias opuestas). Los resultados obtenidos demostraron que las diferencias observadas en el comportamiento de los genotipos no estaban relacionadas ni con el grado de domesticación ni con la proximidad genética. Esto sugiere la existencia de una base genética compleja para la resistencia, lo que implicaría la aparición de rasgos de resistencia en diferentes etapas y en linajes genéticos no relacionados. No obstante, se observó que los genotipos silvestres y las primeras variedades domesticadas presentaban una mayor resistencia a los pulgones y una mayor tolerancia a las orugas en comparación con los cultivares modernos. Estos hallazgos contribuyen a una mejor comprensión de cómo la domesticación afecta las interacciones entre las plantas y las plagas, resaltando la importancia de la tolerancia en el mejoramiento de los cultivos.

Posteriormente, se investigó el efecto de los tricomas glandulares de tipo IV en el comportamiento de elección de planta huésped y en la dinámica de crecimiento poblacional del pulgón. Para llevar a cabo estos experimentos, se empleó la variedad comercial de tomate Moneymaker (MM), que carece de tricomas glandulares tipo IV, y la línea cuasi-isogénica ABL 10-4, que presenta una alta densidad de tricomas IV y una producción abundante de acilsacarosas. Además de examinar el impacto de los tricomas

glandulares en la selección de la planta huésped mediante ensayos de elección en condiciones de libre elección y sin elección, también se comparó el crecimiento poblacional sobre los dos genotipos. Los resultados revelaron que la presencia de tricomas glandulares de tipo IV afectan negativamente la dinámica de crecimiento poblacional. Los pulgones mostraban una clara aversión hacia el genotipo que presentaba estos tricomas glandulares, evitándolo activamente, así como una reproducción deficiente en comparación con el genotipo que carecía de ellos.

Por otro lado, se llevó a cabo un estudio para determinar si una infestación previa de *M. euphorbiae* o de *S. littoralis* comprometía la resistencia conferida por los tricomas glandulares de tipo IV de la línea ABL 10-4 a *M. euphorbiae*. Los resultados obtenidos demostraron que la resistencia basada en tricomas glandulares tipo IV es eficaz frente a los pulgones, independientemente del tipo de infestación previa. Sin embargo, las plantas previamente infestadas con *S. littoralis* fueron más resistentes que las plantas de control, lo que indica que un primer ataque del herbívoro masticador, que activa la vía del ácido jasmónico (JA), resultó en una mayor resistencia frente a *M. euphorbiae*. Del mismo modo, la infestación previa de MM con *S. littoralis* condujo a un incremento en la resistencia contra *M. euphorbiae*. Por el contrario, las plantas MM que habían sido infestadas previamente con *M. euphorbiae* resultaron ser más susceptibles a un segundo ataque de este mismo pulgón. Además, se determinó la dinámica de crecimiento poblacional del áfido *M. euphorbiae* en genotipos con deficiencia en las vías principales de señalización, para el JA y del ácido salicílico (SA) (líneas *spr2* y *NahG*, respectivamente). Los resultados revelaron que el mutante *spr2*, impedido en la síntesis del JA, es más susceptible que su contraparte silvestre (genotipo control). En cambio, la línea de tomate transgénica *NahG*, deficiente en la acumulación de SA, mostró una menor susceptibilidad en comparación con el genotipo control. Estos hallazgos demostraron que el JA juega un papel relevante en la defensa del tomate contra el pulgón.

Por último, se compararon los perfiles transcriptómicos de *M. euphorbiae* expuestos a MM y ABL10-4 utilizando RNA seq. En un primer lugar, se generó un transcriptoma de

novo que resultó ser una valiosa herramienta genómica para la detección de potenciales dianas génicas en *M. euphorbiae*. Además, se logró identificar por primera vez un perfil de expresión génica único y distintivo relacionado con la exposición del pulgón a los tricomas glandulares de tipo IV y a sus acilsacarosas. Este análisis mostró que los tricomas glandulares del tomate y sus secreciones asociadas desencadenan respuestas relacionadas con el estrés en el pulgón, y demuestra que su papel en la defensa de la planta va más allá del impedimento físico de la actividad del insecto. De este modo, se identificaron genes diferencialmente expresados (DEGs) asociados con los metabolismos de carbohidratos, lípidos y xenobióticos, el sistema inmunitario, la respuesta al estrés oxidativo y las vías hormonales de biosíntesis. Por otro lado, las respuestas observadas fueron compatibles con un síndrome de inanición. También se identificaron biomarcadores conservados en artrópodos (fundamentales para su supervivencia) afectados por los tricomas glandulares y sus secreciones y, en consecuencia, los resultados de este estudio sugieren que otros grupos funcionales (por ejemplo, polinizadores o enemigos naturales de las plagas de insectos) también podrían experimentar respuestas similares cuando se exponen a estas estructuras defensivas.



La doctoranda (ahora doctora), miembros del tribunal y directores después de la defensa de la tesis. De izquierda a derecha: Emilio Benítez (Presidente), Eduardo de la Peña (Director), Lidia Blanco (Doctoranda), Juan Antonio Díaz (Codirector), Pedro Gómez (Vocal) y Araceli Castillo (Secretaria).

Trabajos derivados de la Tesis que ya han sido publicados:

- **Blanco-Sánchez, L.,** Planelló, R., Llorente, L., Díaz-Pendón, J. A., Ferrero, V., Fernández-Muñoz, R., Herrero, O. & de la Peña, E. (2021). Characterization of the detrimental effects of type IV glandular trichomes on the aphid *Macrosiphum euphorbiae* in tomato. *Pest Management Science*, 77(9), 4117-4127.
- Ferrero, V., Baeten, L., **Blanco-Sánchez, L.,** Planelló, R., Díaz-Pendón, J. A., Rodríguez-Echeverría, S., Haegeman, A. & de la Peña, E. (2020). Complex patterns in tolerance and resistance to pests and diseases underpin the domestication of tomato. *New Phytologist*, 226(1), 254-266.

- Planelló, R., Llorente, L., Herrero, Ó., Novo, M., **Blanco-Sánchez, L.**, Díaz-Pendón, J. A., Fernández-Muñoz, R., Ferrero, V. & de la Peña, E. (2022). Transcriptome analysis of aphids exposed to glandular trichomes in tomato reveals stress and starvation related responses. *Scientific Reports*, 12(1), 20154.
- **Blanco-Sánchez, L.**, Planelló, R., Ferrero, V., Fernández-Muñoz, R., de la Peña, E., & Díaz Pendón, J. A. (2023). More than trichomes and acylsugars: the role of jasmonic acid as mediator of aphid resistance in tomato. *Journal of Plant Interactions*, 18(1), 2255597.