

Herbivoría diferencial frente al lepidóptero especialista *Phocides polybius phanias* (Hesperiidae)

G. MAREGGIANI, A. GARAU

Phocides polybius phanias es un lepidóptero altamente especialista, cuyos hospedantes se circunscriben a la familia Mirtaceae, particularmente *Eucalyptus* spp. Se analizó la herbivoría ocasionada por larvas de tercer estadio en un ensayo de elección simple, ofreciendo como alimento hojas de seis especies de *Eucalyptus* de cultivo frecuente en la Ciudad de Buenos Aires, Argentina. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos. *E. camaldulensis* resultó la especie más dañada mientras que *E. globulus* fue la menos preferida. Estos datos se compararon con los de otro ensayo efectuado con larvas de tercer estadio cuyo alimento consistió en material inerte impregnado con un fagoestimulante y con uno de los metabolitos secundarios mayoritarios de *Eucalyptus* spp., el 1,8 cineol. El material tratado con fagoestimulante+1,8 cineol fue significativamente menos comido que el control ($p < 0.05$). La preferencia diferencial que *P. polybius phanias* mostró en el ensayo de elección simple con follaje, podría entonces atribuirse a la concentración diferencial de este compuesto en las especies de *Eucalyptus* ensayadas.

G. MAREGGIANI. Cát. Zoología Agrícola Fac. Agronomía UBA, Avda. San Martín 4453, Bs.As., Argentina, email: mareggia@agro.uba.ar

A. GARAU. Cát. Dasonomía, Fac. Agronomía UBA, Avda. San Martín 4453, Bs.As., Argentina

Palabras clave: *Eucalyptus* spp. 1,8 cineol. preferencias alimentarias.

INTRODUCCIÓN

Phocides polybius phanias Burmeister (Hesperiidae) es un lepidóptero oligófago o especialista cuyos hospedantes se circunscriben a la familia Myrtaceae, particularmente *Eucalyptus* spp. (LARRIERA URES, 1990)

Las larvas, de tipo eruciforme, presentan franjas transversales amarillas sobre fondo rojo, durante la mayor parte de su desarrollo (Figura 1), recubriéndose de una capa cerosa blanquecina en los últimos estadios. Se las encuentra sobre el follaje, o bien protegidas en un refugio formado por las hojas o por trozos semicirculares de ellas, que adhieren mediante hilos sedosos producidos por la propia larva (Figura 2). El perjuicio que pro-

ducen en el follaje es muy característico pues cortan la hoja desde el borde ocasionando ausencia de secciones semicirculares de tejido (Figura 3).

El patrón de forrajeo de los insectos defoliadores es variable en función de numerosas características propias de las hojas, como por ejemplo la edad (MEYER y MONTGOMERY, 1987), su valor nutritivo (Howard, 1987), su dureza (FOLGARAIT y DAVIDSON, 1994) o la presencia de ceras superficiales (FLOYD *et al.*, 1994). Del mismo modo, distintos compuestos secundarios tienen un efecto directo en la defensa del follaje contra la herbivoría (STONE y BACON, 1994).

Los eucaliptos tienen glándulas en sus hojas que producen aceites esenciales cuyo



Figura 1. Larva de *P. polybius phanias* de 3er estadio.



Figura 2. Refugio larval de *P. polybius phanias* en *E. camaldulensis*.

rendimiento y composición química varía ampliamente entre especies, individuos o época del año (BARTON *et al.*, 1989; STONE y BACON, 1994; DORAN y BELL, 1994; WILDY *et al.*, 2000). La complejidad química del patrón de forrajeo de *Eucalyptus* spp. está regulada por distintos metabolitos secundarios, que pertenecen principalmente a dos grupos, los terpenos, entre los que se ubica el 1,8 cineol y un grupo definido de compuestos fenólicos, los diformylphloroglucinoles (MOORE *et al.*, 2004). El 1,8 cineol se encuentra distribuido en hojas jóvenes y adultas de eucalipto (CLOSE *et al.*, 2005) y su actividad tóxica y subletal ha sido evaluada sobre lepidópteros como *Spodoptera litura*

Fabricius (ISMAN, 2000) y *Ephestia kuehnie-lla* Zeller (ERLER, 2005).

Sobre la base de observaciones de campo que mostraron diferente grado de herbivoría por *P. polybius phanias* en distintas especies de eucaliptos (MAREGGIANI *et al.*, 2005b), así como por antecedentes bibliográficos que mencionan variaciones en la defoliación debida a otros insectos, de acuerdo con la especie y subespecie considerada, en este trabajo se analizó la herbivoría ocasionada por larvas de tercer estadio cuya oferta de alimento consistió en hojas de seis especies de *Eucalyptus* de cultivo frecuente en los alrededores de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, República Argentina. Además, los resultados de ingesta se compararon con los registrados sobre material inerte impregnado con fagoestimulante y con el monoterpenoide 1,8 cineol, uno de los metabolitos secundarios mayoritarios de *Eucalyptus* spp.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se efectuaron dos grupos de bioensayos de elección simple:

a. Herbivoría sobre material vegetal

El bioensayo, con un diseño completamente aleatorizado, comprendió seis tratamientos, representados por las especies de *Eucalyptus* en estudio (*E. camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. dunnii*, *E. sideroxylon*, *E.*



Figura 3. Daño en semicírculos, causado por *P. polybius phanias* en *E. camaldulensis*.



Figura 4. Vista parcial del bioensayo de herbivoría sobre material de *Eucalyptus* spp.

grandis y *E. globulus*). Cada repetición estuvo constituida por una caja de petri con el fondo cubierto por papel de filtro humedecido, conteniendo hojas de peso y edad semejante y una larva de tercer estadio de *P. polybius phanias* (Figura 4). Se midió la superficie ingerida a las 24 y 48 h. Los resultados fueron analizados a través de un ANOVA y se utilizó la prueba de Tukey ($p < 0.05$) para establecer diferencias significativas entre tratamientos.

b. Herbivoría sobre material inerte impregnado con 1,8 cineol

Se efectuó un bioensayo con un diseño completamente aleatorizado en cajas de petri acondicionadas de igual manera que en el punto anterior. Se realizaron cinco tratamientos, representados por trozos de papel de filtro recortados del tamaño y forma de una hoja e impregnados con sacarosa (fagoestimulante) y una solución acetónica de 1,8



Figura 5. Vista parcial del bioensayo de herbivoría sobre material inerte impregnado con fagoestimulante y con 1,8 cineol 0,1% (izquierda: control con sacarosa, derecha: sacarosa + cineol).

cineol (standard comercial) en cuatro concentraciones: 0% (control), 0.1%, 1%, 10% y 100%. Se dejó evaporar la acetona durante una hora, con posterioridad a lo cual se incorporó una larva de tercer estadio por repetición. Se midió la superficie ingerida a las 24 h en el control y en el tratamiento con 0.1% cineol, ya que en los restantes tratamientos hubo mortalidad larval (Figura 5).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de los resultados mostró que la ingestión de *E. camaldulensis* fue significativamente mayor ($p < 0.05$) tanto a las 24 h como a las 48 h de iniciado el ensayo (Figuras 6 y 7). Por su parte y también en ambos momentos de observación, *E. globulus* resultó la especie menos comida. Estos datos coinciden con las observaciones realizadas en campo, ya que desde 2004, fecha en que comenzó a detectarse este lepidóptero en parques de la ciudad de Buenos Aires, la mayor parte de los daños se han registrado sobre *E. camaldulensis* (MAREGGIANI *et al.*, 2005a).

Las demás especies mostraron resultados intermedios. A las 24 h y 48 h (Figura 6 y Figura 7) no se registraron diferencias en la ingesta de *E. sideroxylon*, *E. tereticornis*, *E. dunnii* y *E. grandis* y todas resultaron con

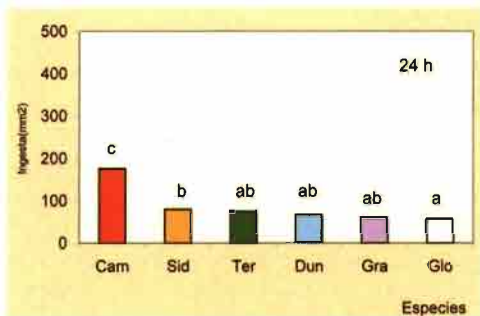


Figura 6. Superficie foliar ingerida durante 24 hs en hojas de distintas especies de *Eucalyptus*. Letras distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$). Cam: *E. camaldulensis*, Sid: *E. sideroxylon*, Ter: *E. tereticornis*, Dun: *E. dunnii*, Gra: *E. grandis*, Glo: *E. globulus*.

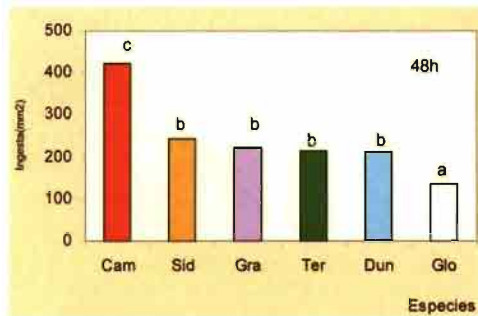


Figura 7. Superficie foliar ingerida durante 48 hs en hojas de distintas especies de *Eucalyptus*. Letras distintas representan diferencias significativas ($p < 0.05$). Cam: *E. camaldulensis*, Sid: *E. sideroxylon*, Ter: *E. tereticornis*, Dun: *E. dunnii*, Gra: *E. grandis*, Glo: *E. globulus*.

menor grado de daño que *E. camaldulensis*. Sin embargo, a las 48 h se manifestaron diferencias significativas entre *E. dunnii*, *E. tereticornis* y *E. grandis* con *E. globulus*.

En un ensayo comparativo con siete especies de eucalipto en relación con la defoliación por hormigas podadoras VENDRAMIN *et al.* (1995) no observaron diferencias entre *E. grandis*, *E. dunnii* y *E. camaldulensis*, ocupando todas ellas posiciones intermedias de preferencia; mientras que *E. grandis* resultó la segunda especie menos preferida.

Por su parte, QUEIROZ SANTANA y DOS ANJOS (1989) tampoco encontraron diferencias en el ataque de hormigas entre *E. camaldulensis*, *E. dunnii* y *E. tereticornis*, si bien *E. tereticornis* fue menos dañada por una especie de hormiga en particular. Según VENDRAMIN *et al.* (1995) la variabilidad en los resultados de preferencia entre distintos autores podría asignarse a posibles diferencias entre los orígenes genéticos del material utilizado, observación que en parte coincide con la de otros autores que observaron distinta susceptibilidad a la defoliación según la población de *Eucalyptus* en estudio (JOHNS *et al.*, 2004). *E. sideroxylon* contiene sideroxytonal, metabolito que modifica el comportamiento de forrajeo de folívoros arbóreos (WIGGINS y MARSH, 2006) y que podría haber intervenido en el caso de estos herbívoros.

El menor daño observado sobre *E. globulus* podría deberse posiblemente al alto tenor de 1,8 cineol presente en su aceite esencial, cuya toxicidad ha sido verificada sobre plagas de granos (LEE *et al.*, 2004). Los herbívoros que se especializan sobre un reducido rango de hospedantes, como es el caso de *P. polybius phanias*, frecuentemente emplean los terpenoides de sus plantas huéspedes como claves para ayudar en la localización del hospedante. Los monoterpénoides como el cineol, por su volatilidad, intervienen como claves para que las hembras de algunos lepidópteros localicen la especie de *Eucalyptus* más apropiada para realizar sus posturas (STEINBAUER y SCHIESTL, 2004). Algunas larvas de lepidópteros presentan en su intestino oxigenasas dependientes del citocromo P-450 que permiten su detoxificación, adecuándolo como alimento (GERSHENZON y CROTEAU, 1991). Este proceso tiene un costo metabólico que debe ser compensado por el beneficio que otorga, y que se ha evaluado en algunos marsupiales folívoros que se especializan en *Eucalyptus* (KROCKENBERGER, 1988). El mecanismo de detoxificación podría explicar la diferente respuesta en la preferencia de una misma especie de eucalipto según el herbívoro de que se trate.

En nuestro ensayo, las larvas que recibieron concentración de cineol puro mostraron

100% de mortalidad a la hora de exposición, mientras que a 10 y 1% se registraron valores de mortalidad que oscilaron entre 50 y 20 % respectivamente. En el tratamiento 0.1%, que no causó efectos letales, la superficie ingerida fue 9,8 veces mayor para el control impregnado con sacarosa (ingesta promedio de 40,2 mm²) en comparación con el tratado con sacarosa y cineol 0,1% (ingesta promedio de 4,1 mm²). Estas diferencias llevarían a suponer que este metabolito, en diferentes concentraciones según la especie de *Eucalyptus*, podría actuar modulando la aceptación de la fuente de alimento. En tal sentido, las diferencias en el contenido de 1,8 cineol que se citan para *E. globulus* y *E. camaldulensis* e incluso *E. grandis* (PAPPAS y SHEPPARD-HANGER, 2000; BARTON et al., 1989; FLOYD et al., 1994; BASER et al., 1998) coincidirían con los niveles de daño observados en nuestro ensayo.

Las preferencias aquí observadas también podrían haber resultado influenciadas por otros factores como palatabilidad, dureza y

contenido hídrico de las hojas así como por la presencia de pelos o ceras en la superficie (HOWARD, 1987). Para ponderar adecuadamente su efecto, se hacen necesarios estudios adicionales que definan la importancia relativa de los factores químicos y físicos en la selección del alimento.

CONCLUSIONES

Se encontraron diferencias significativas en el nivel de daño causado por *Phocides polybius phanias* (Hesperidae) en hojas de distintas especies de eucalipto. El contenido de 1,8 cineol, un importante metabolito secundario típico del género *Eucalyptus*, podría explicar la preferencia diferencial hacia las seis especies analizadas.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Buenos Aires por el apoyo económico otorgado (Proyecto UBACyT G062).

ABSTRACT

MAREGGIANI G., A. GARAU. 2006. Differential herbivory of the specialist lepidoptera *Phocides polybius phanias* (Hesperidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 32: 757-762.

Phocides polybius phanias is a lepidoptera with high specialization, whose hosts belong to the Myrtaceae family, particularly *Eucalyptus* spp. Leaves of six *Eucalyptus* species frequently planted in Buenos Aires city, Argentina, were offered to third instar larvae to analyze herbivory in a single choice test. Significant differences ($p < 0.05$) among the treatments were found. *E. camaldulensis* was the most damaged species while *E. globulus* was the less preferred. These data were compared with another test with third instar larvae which were offered an inert material treated with a phagostimulant+1,8 cineol, one of the principal secondary compounds in *Eucalyptus* spp. The material treated with 1,8 cineol+phagostimulant was significantly less eaten than the control ($p < 0.05$). The differential preferences that *P. polybius phanias* showed in the foliage single choice test could then be attributed to different concentrations of this compound in the *Eucalyptus* tested.

Key words: *Eucalyptus* spp, 1,8 cineol, feeding preferences.

REFERENCIAS

- BARTON, A., TJANDRA, J., P. NICHOLAS. 1989. Chemical evaluation of volatile oils in *Eucalyptus* species. *Journal of Agric. Food Chem.*, 37: 1253-1257.
- BASER, K., GULBABA, A., AZCAN, N., KARA, M., KIRIMER, N., KURKCUOGLU, M., OZEK, T., N.OZKURT. 1998. Study of the technology, yield and composition of essential oils from some *Eucalyptus* species grown in Turkey. *Teknic. Bultrn Orman Bakanligi Dogu Akdaniz Ormancilik Arastirma Enstitusu*, 7: 60 p.

- CLOSE, D., MC. ARTHUR, C., HAGERMAN, A. E., FITZGERALD, H. 2005. Differential distribution of leaf chemistry in eucalypt seedlings due to variation in whole-plant nutrient availability. *Phytochemistry*, **66** (2):215-221.
- DORAN J., R. BELL. 1994. Influence of non-genetic factors on yield of monoterpenes in leaf oils of *Eucalyptus camaldulensis*. *New Forest*, **8**, 4: 363-379.
- ERLER, F. 2005. Fumigant activity of six monoterpenoids from aromatic plants in Turkey against the two stored product pests Confused flour beetle, *Tribolium castaneum* and Mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella*. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, **112** (6): 602-611.
- FLOYD, R., FANOW, R., NEUMANN, F. 1994. Inter and intra provenance variation in resistance of red gum foliage to insect feeding. *Australian Forestry*, **57**: 45-48.
- FOLGARAIT, P., D. DAVIDSON. 1994. Antiherbivore defenses of myrmecophytic *Cecropia* under different light regimes. *Oikos*, **71**: 305-320.
- GERSHENZON, J., CROTEAU, R. 1991. Terpenoids. Chapter 5 p.165-220 In "Herbivores. Their interactions with secondary plant metabolites" Academic Press Inc. USA.
- HOWARD, J. 1987. Leafcutting ant diet selection: the role of nutrients, water and secondary chemistry. *Ecology*, **68** (3): 503-515.
- ISMAN, M. B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, **19** (8-10): 603-608.
- JOHNS, C. V., STONE, C., HUGHES, L. 2004. Feeding preferences of the Christmas beetle *Anoplognathus chloropyrus* (Coleoptera: Scarabaeidae) and four paropsine species (Coleoptera:Chrysomelidae) on selected *Eucalyptus grandis* clonal foliage. *Australian Forestry*, **67** (3): 184-190.
- KROCKENBERGER, A. 1988. Metabolic cost of detoxification of 1,8 cineole (Eucalyptol) in two arboreal folivores, the ringtail possum (*Pseudocheirus peregrinus*) and the brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*). Hons thesis, University of Sydney, Australia.
- LARRIERA ÜRES, B. 1990. Principales enfermedades y plagas que afectan a algunas especies del género *Eucalyptus*. Jornadas sobre *Eucalyptus* para la región pampeana. CIEF, Bs. As., Argentina. p. 241-254.
- LEE, B. H., ANNIS, P. C., TUMAALII, F., CHOI, W. S. 2004. Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8 cineole against 3 major stored-grain insects. *Journal of Stored Products Research*, **40** (5): 553-564.
- MAREGGIANI, G., PANNUNZIO, M. J., GARAU, A., MOYA, A. 2005a. *Phocides polybius phanias* (Lepidoptera: Hesperidae): nueva plaga en la Ciudad de Buenos Aires. VI Congreso Argentino de Entomología. Tucumán. Resúmenes, p. 252.
- MAREGGIANI, G., GARAU, A., MOYA, A., MICHETTI, M. 2005b. Host preferences of the specialist lepidoptera *Phocides polybius phanias* (Hesperidae). VI Congreso Argentino de Entomología. Tucumán. Resúmenes, p. 146.
- MEYER, G., MONTGOMERY, M. 1987. Relationships between leaf age and the food quality of cottonwood foliage for the gypsy moth *Lymantria dispar*. *Oecologia*, **72**: 527-532.
- MOORE, B., WALLIS, J. R., PALÁ-PAUL, J., BROPHY, J. J., WILLIS, R. H., FOLEY, W. J. 2004. Antiherbivore chemistry of Eucalyptus-cues and deterrents for marsupial herbivores. *Journal of Chemical Ecology*, **30** (9): 1743-1769.
- PAPPAS, R., SHEPPARD-HANGER, S. 2000. Essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. from South Florida: a high crytone/low cineole eucalyptus. *Journal of Essential Oil Research*, **12**, 3: 383-384.
- QUEIROZ SANTANA, D., DOS ANJOS, N. 1989. Resistencia de *Eucalyptus* spp (Myrtaceas) a *Atta sexdens rubropilosa* e *Atta laevigata* (Hymenoptera: Formicidae). *Rev.Arvore*, **13** (2): 174-181.
- STEINBAUER, M. J. , SCHIESTL, F. P. 2004. Monoterpenes and epicuticular waxes help female autumn gum moth differentiate between waxy and glossy *Eucalyptus* and leaves of different ages. *Journal of Chemical Ecology*, **30** (6): 1117-1142.
- STONE, C., BACON, P. 1994. Relationships among moisture stress, insect herbivory, foliar cineole content and the growth of river red gum *Eucalyptus camaldulensis*. *Journal of Applied Ecology*, **31**: 604-612.
- VENDRAMIN, J., SILVEIRA NETO, S., CERIGNONI, J. 1995. Nao preferencia de *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae) por especies de *Eucalyptus*. *Ecossistema*, **20**: 87-92.
- WIGGINS, N.,L., MARSH, K.,J. 2006. Sideroxylonal in eucalyptus foliage influences foraging behaviour of an arboreal folivore. *Oecologia*, **147** (2): 272-279.
- WILDY, D., PATE, J., BARTLE, J. 2000. Variations in composition and yield of leaf oils from alley-farmed oil mallees (*Eucalyptus* spp) at a range of contrasting sites in the Western Australian wheat belt. *Forest Ecology and Management*, **134**: 205-217.

(Recepción: 30 mayo 2006)

(Aceptación: 15 septiembre 2006)