

Evaluación foliar de aceites esenciales de especies de *Eucalyptus* sp. susceptibles al daño de *Gonipterus scutellatus* (Coleoptera: Curculionidae)

Huerta, A. (1), Chiffelle, I. (2) y García, D. (1).

(1) Departamento de Silvicultura. Facultad de Ciencias Forestales. Universidad de Chile. Casilla 9206-Santiago. Chile. ahuerta@uchile.cl

(2) Departamento de Agroindustria y Enología. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile.

INTRODUCCIÓN

En 1998 aparece en Chile la plaga *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae), trayendo consigo una creciente preocupación por las más de 525.057 ha (INFOR, 2006) plantadas en el país con diferentes especies de Eucalipto. Actualmente esta plaga se ha expandido por las regiones IV a IX (SAG, 2006).

En el contexto mundial, esta plaga de origen australiano está catalogada como uno de los principales agentes dañinos del género *Eucalyptus* y es considerada cuarentenaria para Estados Unidos y algunos países europeos y asiáticos (Mansilla, 1992; Cowles y Downer, 1995; Cordero *et al.*, 1999; Hanks *et al.*, 2000; Withers, 2001). Por el alto potencial reproductivo de este insecto, junto con su capacidad de defoliación intensa puede causar pérdidas de crecimiento y/o deformaciones del fuste e incluso la muerte con ataques sucesivos (Elliot y De Little, 1985; Santolamazza y Cordero, 1998).

Hasta ahora en el país se ha estudiado el ciclo de vida de *G. scutellatus*, algunos parámetros biológicos, y aspectos referidos a la composición de proteínas y susceptibilidad/resistencia de especies de Eucalipto al daño de este insecto, entre otros factores (Estay *et al.*, 2003; Huerta *et al.*, 2007).

Los aceites esenciales se definen como productos volátiles de naturaleza compleja, producidos por ciertos vegetales a los que confieren un olor agradable. Habitualmente se denominan esencias, aunque este término es mucho más amplio, porque engloba no sólo a los aceites

esenciales sino también a otras sustancias obtenidas por métodos de extracción muy diversos (Kuklinski, 2000; Bruneton, 2001)

Estos aceites esenciales se asocian a la polinización (atrayentes de insectos), defensa contra la alimentación (irritantes), sustancias de reserva, protección en procesos de cicatrización, regulación de los procesos de evaporación de agua, acumulación de desechos metabólicos, mecanismo de defensa contra otras plantas (alelopatía), entre otros (Floyd y Foley, 2001). Los aceites esenciales acumulados en las glándulas de las hojas de especies de eucalipto presentan actividad antifúngica, antimicrobiana e insecticida (Lee *et al.*, 2001; Ramezani *et al.*, 2002; Sacchetti *et al.*, 2005).

En las hojas del género *Eucalyptus*, el aceite esencial más estudiado y abundante es el monoterpeno 1,8-cineol, conocido como eucaliptol. Esta sustancia puede encontrarse en concentraciones de hasta 27 mg g⁻¹ de masa seca, mientras que las concentraciones máximas de cualquiera de los otros terpenos no superan los 3,5 mg g⁻¹ de masa seca (Floyd y Foley, 2001).

Además, el eucaliptol actúa como alelopático, inhibiendo la germinación y el crecimiento de gramíneas. Los metabolitos secundarios como el α -pineno, el β -pineno y el limoneno también pueden encontrarse frecuentemente en este género y actúan como neurotóxicos en los ganglios basales del sistema nervioso central en mamíferos y en el sistema nervioso periférico en insectos, artrópodos y crustáceos (Gershenzon y Croteau, 1991).

De acuerdo a un estudio australiano con varias especies de eucalipto que sirvieron de alimento a un escarabajo del género *Anoplognathus*, existen correlaciones positivas entre la concentración de eucaliptol y la resistencia de la planta infestada. Además, las concentraciones altas de eucaliptol van a menudo acompañadas de concentraciones mayores de otros terpenos, como α -pineno, campheno y limoneno. Por otra parte, estas concentraciones también se asocian a una mayor cantidad de sideroxilonal, un derivado del acylphoroglucinol, que causa efectos similares (Floyd y Foley, 2001).

Una de las formas de medir los terpenos presentes en las plantas es el uso de la *cromatografía de gases* (CG), un método físico de separación de componentes en el que éstos se distribuyen entre dos fases: una *estacionaria*, de gran área superficial, y la otra, un fluido (*fase móvil*) que pasa a

través o a lo largo de la fase estacionaria. La CG se lleva a cabo en un cromatógrafo de gases, el que consta de diversos componentes como el gas portador, el sistema de inyección de muestra, la columna (generalmente dentro de un horno), y el detector (Skoog y Leary, 1994).

Dado estos antecedentes sobre el rol de los aceites esenciales en especie de Eucalipto y su relación con el ataque de insectos, esta investigación tiene por objetivo evaluar los aceites esenciales, mediante cromatografía de gases, de las hojas de tres especies de *Eucalyptus* (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *E. globulus* Labill. y *E. nitens* Maiden) susceptibles al daño de *G. scutellatus*, que podrían incidir en su resistencia al ataque por parte de este curculiónido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

En esta investigación se utilizaron hojas de tres especies de eucalipto, con algún grado de susceptibilidad a *G. scutellatus* y de uso comercial en Chile. Las especies escogidas fueron: *E. globulus*, *E. nitens* y *E. camaldulensis*. Las hojas de las especies de eucalipto se colectaron desde rodales aledaños a la Universidad de Concepción, en Concepción, VIII Región, durante agosto y septiembre de 2006.

Métodos

Se determinaron los aceites esenciales volátiles de muestras de hojas adultas de las tres especies de eucalipto estudiadas (dos repeticiones por especie), mediante un cromatógrafo de gases (Hewlett Packard 5580).

Las muestras usadas para cada repetición se trituraron y luego diluyeron 20 veces con n-hexano para facilitar el transporte de los aceites esenciales a través del instrumento. Posteriormente se inyectaron (200 mg) en la columna del mediante una jeringa. El gas utilizado como medio de transporte en la fase móvil, y que previamente demostró no tener interacción alguna con cada una de las sustancias, fue vapor de agua sujeto a un regulador de presión que permitió controlar su flujo. Cada una de las repeticiones duró 20 minutos a 100°C, tiempo en el cual el detector registró los tiempos correspondientes a la aparición de la esencia al final de la columna y la concentración respectiva, en términos relativos.

Luego de cada repetición la sensibilidad del detector se calibró para obtener los tiempos precisos en que aparecían las esencias, incluso en bajas concentraciones. Con los espectros obtenidos (tiempo v/s área) se hicieron comparaciones entre los aceites esenciales de las distintas especies, mediante patrones preestablecidos. En casos como el de este estudio, la variable área tiene una estrecha correlación con la concentración de cada una de las esencias encontradas. Si bien no es absolutamente lineal serviría para realizar comparaciones a nivel relativo. Los resultados se expresaron gráficamente como porcentaje de la variable área versus el tiempo de retención en minutos.

RESULTADOS

Este análisis de los aceites esenciales de los eucaliptos cobra relevancia por su participación en las propiedades de resistencia/susceptibilidad que ofrecen estas especies frente al daño por insectos. En este caso particular, se consideró la identificación de los componentes mayoritarios de los aceites esenciales presentes en las hojas de especies de eucalipto estudiadas.

De acuerdo a las cromatografías de las hojas de *E. globulus* (Figura 1) se reconocieron cuatro gases: α -pineno, eucaliptol (1,8- cineol), camphino y un derivado del azuleno, en orden de aparición. El compuesto con mayor participación fue el eucaliptol, con cerca de 25% del área. Cabe señalar que los aceites esenciales camphino y el derivado del azuleno sólo se observaron en *E. globulus*.

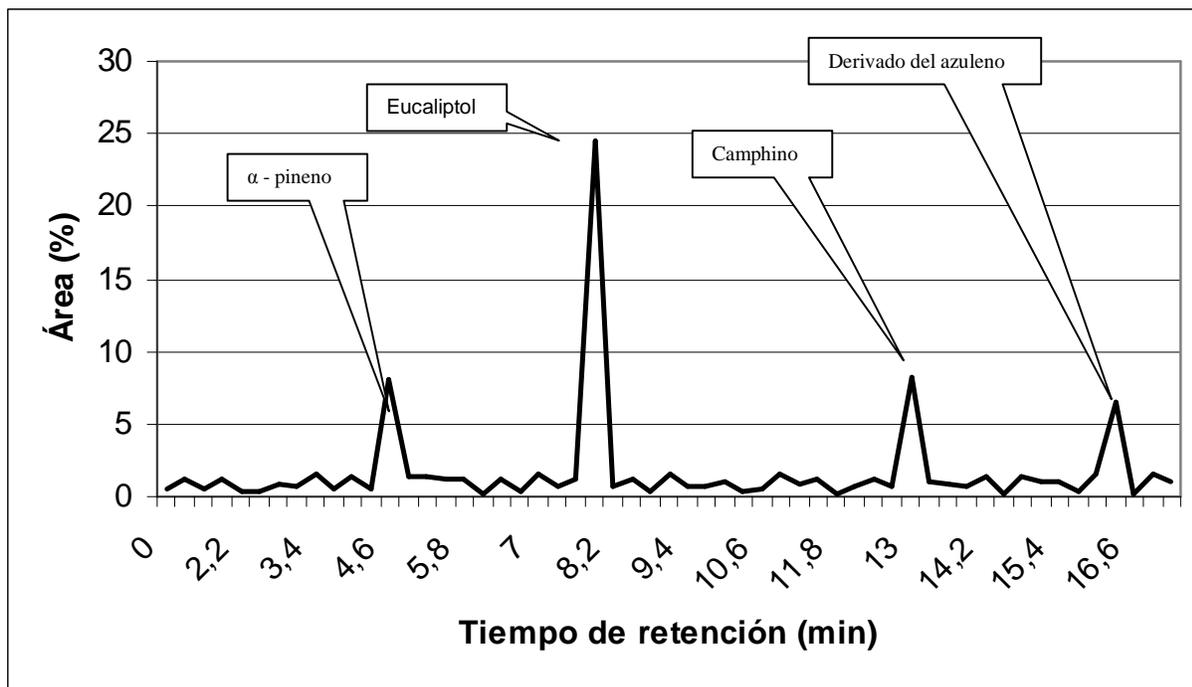


Figura 1. Área (%) de los aceites esenciales de hojas de *E. globulus* según el tiempo de retención (min) durante la cromatografía.

En las hojas de *E. nitens* (Figura 2) se detectaron cuatro aceites esenciales: α - pineno, eucaliptol, α -felandreno y cariofileno. El eucaliptol ocupó la mayor proporción en las hojas de esta especie (50%), el doble que en *E. globulus*. Le siguieron el cariofileno, α - felandreno y por último, α - pineno, todos ellos en menor proporción (inferior al 12%). Los componentes α - felandreno y cariofileno sólo se observaron en *E. nitens*.

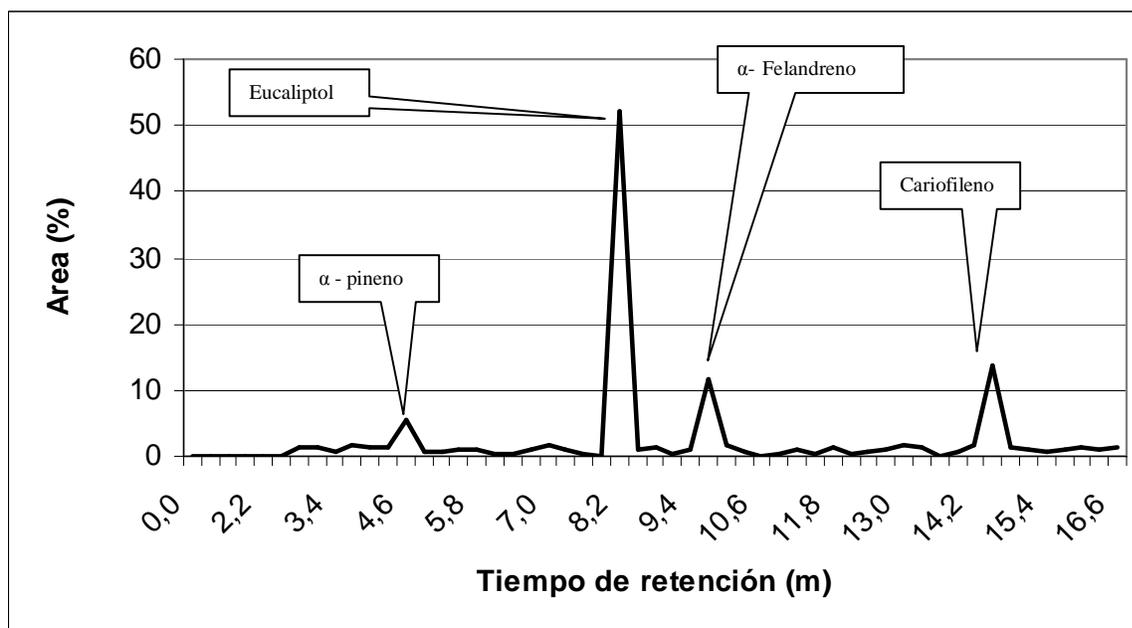


Figura 2. Área (%) de los aceites esenciales de hojas de *E. nitens* según el tiempo de retención (min) durante la cromatografía.

Los aceites esenciales de las hojas de *E. camaldulensis* (Figura 3) comenzaron su aparición recién a los 9 minutos, y se identificaron en total tres aceites: 1,2 metil-2-etil benceno, eucaliptol y ciclo azuleno. Este último tuvo la mayor participación, alrededor del 28%. El aceite esencial 1,2 metil-2-etil benceno sólo se observó en las hojas de *E. camaldulensis*

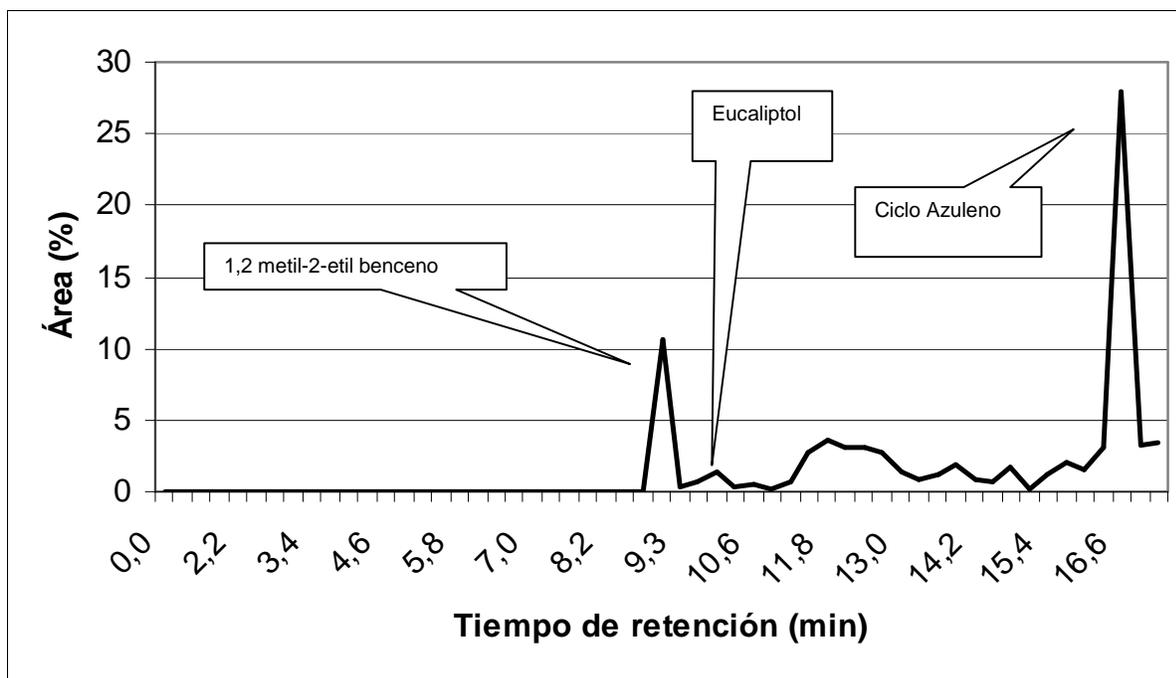


Figura 3. Área (%) de los aceites esenciales de hojas de *E. camaldulensis* según el tiempo de retención (min) durante la cromatografía.

DISCUSIÓN

Los aceites esenciales cumplen una labor de importancia en la defensa de las plantas y formación de barreras repelentes a insectos, hongos e incluso animales herbívoros mayores que puedan dañar hojas y frutos. Dentro del género *Eucalyptus*, el eucaliptol es el aceite esencial de mayor concentración (Gershenzon y Croteau, 1991; Floyd y Foley, 2001).

Se ha documentado en otros trabajos que la composición de los aceites esenciales de las hojas de los eucaliptos puede causar diferencias en susceptibilidad al daño por insectos (Floyd y Foley, 2001; Dungey y Potts, 2003). La función de los metabolitos secundarios de las plantas es actuar específicamente contra la infestación de insectos, para reducir el daño (Kessler y Baldwin, 2002; Vivanco *et al.*, 2005). Según un estudio de la composición química de las hojas de tres especies de eucalipto (*E. melliodora* A. Cunn. ex Schauer, *E. sideroxylon* A. Cunn. ex Woolls y *E.*

polyanthemos Schauer), en las concentraciones de sideroxylonal y 1,8-cineol existe variación inter e intraespecífica, de la que una parte se debe a diferencias genéticas y ambientales. El eucaliptol se ha aplicado artificialmente a ramas de eucalipto, donde ha detenido inmediatamente la alimentación de escarabajos y los ha alejado o los ha hecho buscar refugio en otro sitio hasta que la concentración de eucaliptol vuelva a los niveles normales (Floyd y Foley, 2001).

En esta investigación el eucaliptol fue el más abundante de los aceites esenciales en las hojas de dos de las tres especies de eucalipto, principalmente en *E. nitens* con una participación superior al 50%, y de *E. globulus*, con 25%. En *E. camaldulensis*, el eucaliptol sólo se presentó en cerca del 2%. Huerta *et al.*, (2007), en un estudio sobre la susceptibilidad de especie de Eucalipto a *G. scutellatus*, *E. camaldulensis* fue la especie más susceptible al daño por este insecto, lo que podría estar relacionado con la baja proporción de eucaliptol que presenta esta especie. Por otro lado, en ese mismo estudio la especie más resistente fue *E. globulus*, la que en esta investigación presentó un 25% de eucaliptol.

Los contenidos relativos de 1,8-cineol y α -pineno del aceite esencial encontrado en las hojas de *E. globulus* en este estudio coinciden con los indicados por Sacchetti *et al.* (2005).

Por otro lado, en este estudio se reconoció otro aceite esencial, derivado del azuleno, presente con 28% de participación sólo en las hojas de *E. camaldulensis*. Además se observaron en menor proporción otros componentes de los aceites esenciales como campheno, α -felandreno, y cariofileno, entre otros. Estos monoterpenos también han sido confirmados por sus acciones repelentes y fungicidas, aunque también son fuertemente vinculados a acciones enzimáticas como posible respuesta a incrementos de la temperatura ambiente (Sharkey y Singsaas, 1995).

Por último, a la luz de los resultados obtenidos se recomienda continuar con otros análisis que consideren el factor tiempo en la composición de los aceites esenciales generados por las especies de eucalipto, a fin de detectar variaciones que pudieran suceder según el desarrollo de los árboles o las estaciones del año en climas templados; también el análisis del factor sitio sería de utilidad con el propósito de acercarse al conocimiento de las variaciones de resistencia/susceptibilidad de las especies de eucalipto frente al daño del insecto.

CONCLUSIONES

El eucaliptol fue el aceite esencial más abundante en las hojas de eucalipto principalmente en *E. nitens*, con más del 50%, seguido de *E. globulus*, con 25% de presencia y finalmente, cerca del 2% en *E. camaldulensis*. En el aceite esencial de las hojas de *E. camaldulensis* hubo una mayor participación de ciclo azuleno (20%), que se encontró sólo en esta especie. También se encontraron otros aceites esenciales en menor proporción, incluyendo α -pineno, camphino, entre otros. Se recomienda proseguir con estudios conducentes a profundizar sobre el conocimiento de las preferencias de *G. scutellatus* por especies de eucalipto y del comportamiento de los aceites esenciales como factor de resistencia/susceptibilidad al daño.

LITERATURA CITADA

- Arzone, A; Meotto, F. 1978. Reperti biol6gicos su *Gonipterus scutellatus* Gyll. (Col, Curculionidae) infestate gli eucalipti della riviera ligura. REDIA 61:205-222.
- Brugnoni, H. 1980. Plagas forestales, zoofit6fagos que atacan las principales especies forestales naturales y cultivadas en la Rep6blica Argentina. Buenos Aires, Argentina, Editorial Hemisferio Sur. 216 p.
- Bruneton, J. 2001. Aceites esenciales. Factores de variabilidad de los aceites esenciales. En: Farmacognosia. Zaragoza, Espa1a, Acribia, SA. p. 488-491
- Cordero, A; Santolamazza, S; Andr6s, J. 1999. Life cycle and biological control of the *Eucalyptus* snout beetle (Coleoptera, Curculionidae) by *Anaphes nitens* (Hymenoptera, Mymaridae) in north-west Spain. Agricultural and Forest Entomology 1: 103-109.
- Cordero, A; Santolamazza, S. 2000. The effect of three species of Eucalyptus on growth and fecundity of the Eucalyptus snout beetle (*Gonipterus scutellatus*). Forestry 73(1):21-29.
- Cowles, R; Downer, J. 1995. Eucalyptus snout beetle detected in California. California Agriculture 49 (1): 38-40.
- Dungey, HS; Potts, BM. 2003. Eucalypt hybrid susceptibility to *Gonipterus scutellatus* (Coleoptera: Curculionidae). Austral Ecol. 28: 70-74.
- Elliot, HJ; De Little, DW. 1985. Insect pest of trees and timber in Tasmania. Tasmania, Hobart, Forestry Commission. 90 p.
- Estay, S; Araya, J; Guerrero, MA. 2002. Biolog1a de *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae) en San Felipe, Chile. Bolet6n de Sanidad Vegetal Plagas 28 (3): 391-397.

- Floyd, R; Foley, J. 2001: Identifying pest resistant eucalyptus using near-infrared spectroscopy. Canberra, Australia, RIRDC Publication 01/112,
- Gershenzon, J; Croteau, R. 1991. Terpenoids. En: Rosenthal,GS.; Berenbaum, MR. eds. Herbivores, their interaction with secondary metabolites. New York, USA, Academic Press. p. 169-219.
- Hanks, L; Millar, J; Paine, T; Campbell, C. 2000. Classical Biological Control of the Australian Weevil *Gonipterus scutellatus* (Coleoptera: Curculionidae) in California. Environmental Entomology 29(2): 369–375.
- Huerta, A; Chiffelle, I; Serrano, M; Vásquez, T; Araya, JE. 2007. Protein profiles of *Gonipterus scutellatus* (Coleoptera: Curculionidae) larvae fed from leaves three Eucalyptus species. New Zealand Journal of Crop Horticultural Science 35:357.363.
- INFOR (Instituto Forestal). 2006. Estadísticas Forestales 2005. Boletín Estadístico 111. Santiago. Chile. 165 p.
- Kessler, A; Baldwin, I. 2002. Plant responses to insect herbivory: The emerging molecular analysis. Annual Review of Plant Biology 53: 299-328.
- Kuklinski, C. 2000. Aceites esenciales. En Farmacognosia. Estudio de las Drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona, España, Ediciones Omega. p. 134-143.
- Lee, B H; Choi, WS; Lee, SE; Park, BS. 2001. Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.). Crop Protection 20: 317-320.
- Mansilla, J. 1992. Presencia sobre *Eucalyptus globulus* Labill de *Gonipterus scutellatus* Gyll. (Col, Curculionidae) en Galicia. Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas 18 (3): 547-554.
- Ramezani, H; Singh, HP; Batish, DR; Kohli, RK. 2002. Antifungal activity of the volatile oil *Eucalyptus citriodora*. Fitoterapia 73:261-262.

- Sacchetti, G; Maietti, S; Muzzoli, M; Scaglianti, M; Manfredini, S; Radice, M ; Bruni, R. 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry* 91: 621-632.
- Santolamazza, S; Cordero, A. 1998. Sperm competition, cryptic female choice and prolonged mating in the Eucalyptus snout beetle, *Gonipterus scutellatus* (Coleoptera, Curculionidae). *Etiología* 6: 33-40.
- SAG (Servicio Agrícola y Ganadero). 2006. Informativo Fitosanitario Forestal N°3. Año 2. Santiago, Chile. 4 p.
- Sharkey, TD; Singsaas, EL. 1995. Why plants emit isoprene. *Nature* 374: 769.
- Skoog, D; Leary, J. 1994. Análisis Instrumental. 4ta ed., Madrid, España, Mc Graw Hill, p. 935.
- Vivanco, JM; Cosio, E; Loyola-Vargas, VM; Flores, HE. 2005. Mecanismos químicos de defensa en las plantas. *Investigación y Ciencia* 341(2): 68-75.
- Withers, TM. 2001. Colonization of eucalypts in New Zealand by Australian insects. *Austral Ecol.* 26: 467-476.



UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES
4° CONGRESO CHILENO DE CIENCIAS FORESTALES

Aceptación para publicación en plataforma virtual

Señores
Comisión Organizadora
4° Congreso Chileno de Ciencias Forestales
Universidad de Talca, Chile.

Estimados Señores

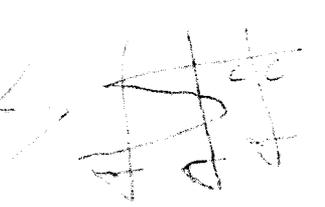
Quien suscribe, autores de la ponencia: "Evaluación foliar de aceites esenciales de especies de *Eucalyptus* sp. susceptibles al daño de *Gonipterus scutellatus* (coleóptera: *curculionidae*).", autorizan a los organizadores del 4° Congreso Chileno de Ciencias Forestales, a la publicación del texto completo en la plataforma virtual *Dspace* de la Biblioteca de la Universidad de Talca, permitiendo con ello a su acceso a través de la Internet.

El texto, que se envió en formato Word, será transformado a formato pdf para su publicación. Su difusión estará disponible hasta el mes de Octubre del 2010.

Atentamente,



Amanda Huerta



Diego Garcia



Ítalo Chiffelle

Talca, junio de 2009.