



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES**  
**ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES**  
**DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA**

---

**PREFERENCIA DE *Gonipterus scutellatus* GYLLENHAL**  
**(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) POR HOJAS DE DISTINTAS**  
**ESPECIES DE EUCALIPTO**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Ingeniero Forestal

**DIEGO RAUL GARCÍA SAFE**

Profesores Guías:  
Dra. Amanda Huerta Fuentes, Ingeniero Forestal  
Dr. Italo Chiffelle Gómez, Bioquímico

---

Santiago, Chile

2008

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES**  
**ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES**  
**DEPARTAMENTO DE SILVICULTURA**

**PREFERENCIA DE *Gonipterus scutellatus* GYLLENHAL**  
**(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) POR HOJAS DE DISTINTAS**  
**ESPECIES DE EUCALIPTO**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Ingeniero Forestal

**DIEGO RAUL GARCÍA SAFE**

Calificaciones:	Nota	Firma
Prof. Guía Sra. Amanda Huerta Fuentes	6,2	.....
Prof. Guía Sr. Italo Chiffelle Gómez	6,7	.....
Prof. Consejero Sr. René Carmona Cerda	6,5	.....
Prof. Consejero Sr. Jaime Araya Clericus	6,7	.....

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco primero que todo a mi familia por su apoyo incondicional y plena confianza. A mi padre Raul García por su interés y colaboración en todo ámbito, a mi madre Edith Safe y a mi hermano Felipe.

A mis profesores guías, Dra. Amanda Huerta y Dr. Italo Chiffelle por sus consejos durante la elaboración de este estudio, la preocupación demostrada y por la calidad y eficiencia de sus revisiones y correcciones.

A los profesores consejeros, señores René Carmona Cerda y Jaime Araya Clericus por el nivel de profundidad y detalle en cada una de sus sugerencias.

Al Ingeniero Forestal de cosecha de Bosques Arauco S.A Sr. Felipe Cáceres F. por su gran calidad humana y su orientación.

Al profesor colaborador Dr. Herman Silva del Departamento de Producción Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la U. de Chile por su paciencia y por facilitar el uso de sus laboratorios y equipos de medición cada lunes y jueves.

A la Dra. Ximena Muñoz Riveros, Jefa del Departamento de Genética de Bioforest S.A por su orientación y sus excelentes recomendaciones.

Al profesor Dr. José Becerra Allende del Departamento de Química de la Universidad de Concepción por su gran disposición, voluntad y por haber accedido a trabajar en forma absolutamente gratuita.

A mi gran amigo José Antonio Barahona y a su familia por alojarme en Concepción cada vez que fuese necesario haciendo mi estadía sumamente grata.

A mi polola Johanna Bustos V. por ser una gran y maravillosa compañera, e incluso ayudarme a coleccionar insectos y hojas.

A mis compañeros David Ilabaca, Carlota Saavedra y Gonzalo Ávila por la recolección de material y por todos los momentos compartidos durante la carrera, que de seguro continuarán ahora en una nueva etapa de nuestras vidas.

A todos los que directa o indirectamente me estimularon a terminar mi trabajo.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>2</b>
<b>3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>3</b>
3.1 <i>GONIPTERUS SCUTELLATUS</i> GYLLENHAL .....	3
3.1.1 Antecedentes .....	3
3.1.2 Morfología y ciclo biológico .....	3
3.1.3 Daño .....	5
3.1.4 Control biológico .....	6
3.2 DESCRIPCIÓN DE LAS ESPECIES DE EUCALIPTO .....	7
3.2.1 <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Den .....	7
3.2.2 <i>Eucalyptus nitens</i> Maiden .....	8
3.2.3 <i>Eucalyptus globulus</i> Labill.....	9
3.3 INTERACCIONES PLANTA - INSECTO .....	9
3.4 ACEITES ESENCIALES EN EUCALIPTO.....	11
3.5 CROMATOGRAFÍA DE GASES.....	13
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>16</b>
4.1 MATERIALES .....	16
4.2 MÉTODOS .....	16
4.2.1 Especificaciones previas .....	16
4.2.2 Preferencias de <i>G. scutellatus</i> por especie y estado de desarrollo de hojas.....	17
4.2.3 Determinación de aceites esenciales.....	18
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>20</b>
5.1 PREFERENCIA DE <i>G. SCUTELLATUS</i> POR HOJAS DE ESPECIES DE EUCALIPTO.....	20
5.1.1 Preferencia promedio .....	20
5.1.2 Evolución diaria de la preferencia .....	22
5.2 PREFERENCIA DE <i>G. SCUTELLATUS</i> SEGÚN EL ESTADO DE MADUREZ DE LAS HOJAS DE EUCALIPTO .....	26
5.3 ACEITES ESENCIALES.....	27
<b>6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>31</b>

6.1 PREFERENCIA DE <i>G. SCUTELLATUS</i> ENTRE HOJAS DE ESPECIES DE EUCALIPTO .....	31
6.2 PREFERENCIA DE <i>G. SCUTELLATUS</i> SEGÚN EL ESTADO DE MADUREZ DE LAS HOJAS DE EUCALIPTO.....	32
6.3 ACEITES ESENCIALES EN EUCALIPTO.....	32
<b>7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>34</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>35</b>
<b>9. APÉNDICES .....</b>	<b>40</b>
APÉNDICE 1: DATOS DE PESO (G) EN HOJAS TESTIGO PARA DETERMINAR EL PESO PERDIDO POR HUMEDAD.....	40
APÉNDICE 2: PARÁMETROS ESTADÍSTICOS PARA EL BIOENSAYO UNO .....	40
APÉNDICE 3: PARÁMETROS ESTADÍSTICOS PARA EL BIOENSAYO DOS .....	41
APÉNDICE 4: PARÁMETROS ESTADÍSTICOS PARA EL BIOENSAYO TRES.....	42
APÉNDICE 5: PARÁMETROS ESTADÍSTICOS PARA EL BIOENSAYO CUATRO .....	42
APÉNDICE 6: PARÁMETROS ESTADÍSTICOS PARA EL ENSAYO DE EDAD UNO ( <i>E. GLOBULUS</i> ). 43	
APÉNDICE 7: PARÁMETROS ESTADÍSTICOS ENSAYO DE EDAD DOS ( <i>E. NITENS</i> ).....	44
APÉNDICE 8: PARÁMETROS ESTADÍSTICOS ENSAYO DE EDAD TRES ( <i>E. CAMALDULENSIS</i> )....	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
FIGURA 1.	Adultos de <i>G. scutellatus</i>	4
FIGURA 2.	Larvas de <i>G. scutellatus</i> de diferentes estadíos.	5
FIGURA 3.	Daño producido por <i>G. scutellatus</i> . a) larvas; b) larvas y adultos	6
FIGURA 4.	Esquema de un cromatógrafo de gases	14
FIGURA 5.	Preferencias promedio (%) de <i>G. scutellatus</i> por exposición de hojas de especies de eucalipto, evaluadas según el área foliar consumida por el insecto.	21
FIGURA 6.	Preferencias promedio (%) de <i>G. scutellatus</i> por hojas de especies de eucalipto, evaluadas según peso consumido por el insecto.	22
FIGURA 7.	Peso y área foliar consumidos y acumulados por <i>G. scutellatus</i> expuestos a hojas de <i>E. globulus</i> y <i>E. camaldulensis</i> durante 35 días.	23
FIGURA 8.	Peso y área foliar consumidos y acumulados por <i>G. scutellatus</i> expuestos a hojas de <i>E. globulus</i> y <i>E. nitens</i> durante 35 días.	24
FIGURA 9.	Peso y área foliar consumidos y acumulados por <i>G. scutellatus</i> expuestos a hojas de <i>E. camaldulensis</i> y <i>E. nitens</i> durante 35 días.	25
FIGURA 10.	Peso y área foliar consumidos y acumulados por <i>G. scutellatus</i> , expuestos a hojas de <i>E. camaldulensis</i> , <i>E. nitens</i> y <i>E. globulus</i> durante 35 días.	26
FIGURA 11.	Preferencias de <i>G. scutellatus</i> por hojas jóvenes y maduras según especie de Eucalipto.	27
FIGURA 12.	Área (%) de los aceites esenciales de hojas de <i>E. globulus</i> según el tiempo de retención (min) durante la cromatografía.	28
FIGURA 13.	Área (%) de los aceites esenciales de hojas de <i>E. nitens</i> según el tiempo de retención (min) durante la cromatografía.	29
FIGURA 14.	Área (%) de los aceites esenciales de hojas de <i>E. camaldulensis</i> según el tiempo de retención (min) durante la cromatografía.	30

## ÌNDICE DE TABLAS

		Página
TABLA 1.	Pérdida de peso promedio (%) en las hojas por deshidratación según especie de eucalipto (promedios $\pm$ DE).	18

## RESUMEN

En 1998 aparece en Chile el gorgojo del eucalipto (*Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Col.: Curculionidae), insecto de origen australiano, y con ello una preocupación creciente por las más de 525.000 ha plantadas con especies de Eucalipto. Esta plaga se ha expandido por las regiones IV a IX, causando pérdida de crecimiento, deformaciones de fuste e incluso la muerte de plantas afectadas, como consecuencia de las defoliaciones. Este estudio abordó, por una parte, la preferencia de adultos de este insecto entre tres especies de eucalipto: *E. globulus*, *E. nitens* y *E. camaldulensis*, y por otra, la composición de los aceites esenciales en las especies estudiadas, que podrían incidir en la resistencia a la infestación de este curculiónido.

La preferencia se estudió a través de bioensayos de laboratorio, exponiendo a adultos de *G. scutellatus* a hojas de las especies de eucalipto, en las que se evaluó el consumo área foliar y peso de las hojas durante 35 días. Los aceites esenciales se identificaron por cromatografía de gases. El gas de arrastre fue vapor de agua y las muestras se diluyeron 20 veces en etanol antes de ser inyectadas en el equipo y compararse con patrones preestablecidos.

*G. scutellatus* tuvo una preferencia marcada por hojas de *E. globulus* cuando estuvo expuesto también a hojas de *E. camaldulensis* y a *E. nitens* (o ambas a la vez), siendo estas diferencias significativas. Este insecto presentó preferencia por hojas jóvenes de las tres especies estudiadas, destacando nuevamente su predilección por las de *E. globulus*, la especie más susceptible al daño del insecto. El aceite esencial encontrado en mayor cantidad fue el eucalyptol, que se asocia a un papel defensivo, especialmente en *E. nitens*, donde tuvo una participación superior a 50%, seguido de *E. globulus*, con 25% de presencia y finalmente, en *E. camaldulensis* con cerca de 2%. El aceite esencial proveniente de las hojas de *E. camaldulensis* tuvo una mayor fracción de ciclo azuleno (20%), y se presentó únicamente en esta especie.

Se recomienda proseguir con estudios conducentes a profundizar 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.

Palabras clave: *Gonipterus scutellatus*, aceites esenciales, eucalipto.

## SUMMARY

In 1998, appears the eucalyptus beetle (*Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Col.: Curculionidae) in Chile, insect of Australian origin, bringing a growing concern for the more than 525,000 ha planted with Eucalyptus species. Today this pest has spread to regions IV to IX, causing loss of growth, deformation of the shaft and even death of affected plants as a result of defoliation. This study addressed the one hand, the preference of adults of this insect between three eucalyptus species: *E. globulus*, *E. nitens* and *E. camaldulensis*, and secondly, the composition of essential oils in the species studied, which could affect resistance to the infestation of this curculionids.

The preference was studied through laboratory bioassays, exposing adults *G. scutellatus* to leaves of eucalyptus species, which evaluated the consumption leaf area and leaves weight for 35 days. The essential oils were identified by gas chromatography. The carrier gas was water steam and samples are watered down 20 times in ethanol before being injected into the equipment and compared with preset patterns.

*G. scutellatus* had a strong preference for *E. globulus* leaves when he was also exposed to leaf *E. camaldulensis* and *E. nitens* (or both), these significant differences remain. This insect shows preference for young leaves of the three species studied, once again showing his predilection for *E. globulus*, the species most susceptible to insect damage.

The essential oils found in greater numbers was the eucalyptol, which is associated with a defensive role, especially in *E. nitens*, where he had a stake exceeding 50%, followed by *E. globulus*, with 25% of presence and finally, in *E. camaldulensis* with about 2%. The essential oils from the leaves of *E. camaldulensis* had a higher fraction of azuleno cycle (20%), and was presented only in this species.

It is recommended pursuing studies leading to deepen understanding of preferences *G. scutellatus* species of eucalyptus and behaviour of essential oils as a factor in the strength susceptibility to damage

Key Words: *Gonipterus scutellatus*, essential oils, eucalypt

## 1. INTRODUCCIÓN

En el Manejo Integrado de Plagas (MIP) forestales, las estrategias de tipo genético constituyen un nuevo enfoque dirigido a usar especies más tolerantes al daño, menos apetecibles para la plaga y que cumplan con los requerimientos del mercado. El conocimiento de las bases de la resistencia es útil porque permite la elección de un material de reforestación que reduzca las pérdidas económicas causadas por los insectos.

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. En el contexto mundial, esta plaga 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.

Actualmente en el país esta plaga se ha expandido por las regiones IV a IX (SAG, 2006). Su alto potencial reproductivo, junto con su capacidad de defoliación intensa puede causar pérdidas de crecimiento y/o deformaciones del fuste e incluso la muerte con ataques sucesivos. Particularmente, *G. scutellatus*, en la zona de San Felipe (V Región) presenta entre 3 y 4 generaciones, lo que la convierte en una de las áreas más propicias para su desarrollo en el mundo (Estay *et al.*, 2002).

Hasta ahora en el país se ha estudiado el ciclo de vida, algunos parámetros biológicos, y aspectos referidos a la composición de proteínas y susceptibilidad/resistencia de especies de Eucalipto al daño de *Gonipterus scutellatus*, entre otros factores. Este estudio ahonda en este conocimiento mediante dos líneas de investigación, la preferencia de este insecto entre tres especies del género *Eucalyptus* relevantes en Chile y el estudio de los aceites esenciales en estas especies, que podrían incidir en la resistencia al daño de este curculiónido.

Con esta investigación se espera aportar nuevos antecedentes que contribuyan con el manejo integrado de la plaga en Chile, reduciendo las pérdidas económicas causadas por este insecto e incentiven el uso de especies alternativas comercialmente exitosas y resistentes a diversas condiciones.

## 2. OBJETIVOS

1. Estimar la preferencia de adultos de *G. scutellatus* entre tres especies de Eucalipto y diversos estados de desarrollo de las hojas.
2. Analizar la presencia de aceites esenciales en hojas de las especies de Eucalipto estudiadas.

### 3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal

##### 3.1.1 Antecedentes

*Gonipterus scutellatus* (Coleoptera: Curculionidae) es originario de Queensland, New South Wales, Victoria y Tasmania. En la actualidad se encuentra distribuido en Australia, Tasmania, África, Europa y América (Richardson y Meakins, 1986; Hanks *et al.*, 2000).

En Chile, se detectó por primera vez en 1998 en Termas de Jahuel. En 1999 la plaga quedó establecida en el perímetro formado por Putaendo al Norte (V Región), el Santuario de Aucó por el Sur, las Vizcachas por el Este y Catemu por el Oeste, cubriendo una superficie de 1.156 km<sup>2</sup>; en una prospección posterior se detectó un foco aislado en la Provincia de Chacabuco en la Región Metropolitana (Estay, 2001). Según los últimos reportes esta plaga se ha expandido por las regiones IV a la IX (SAG, 2006).

Esta plaga se alimenta exclusivamente de plantas del género *Eucalyptus*, en cuyas plantaciones ha producido grandes daños en los últimos 70 años (Santolamazza y Cordero, 1998). Según Richardson y Meakins (1986), *Eucalyptus scoparia* Maiden, *E. viminalis* Labill., *E. globulus* Labill. y *E. camaldulensis* Dehnh. son muy susceptibles a la infestación de *G. scutellatus*. Otras especies susceptibles son *E. robusta* Smith, *E. punctata* D.C, *E. maideni* F. v. M. y *E. smithi* R.T. Baker (Cadahía, 1980).

##### 3.1.2 Morfología y ciclo biológico

Los adultos de *G. scutellatus* (Figura 1) tienen el rostro prolongado, corto y robusto, con una coloración que varía desde el rojo claro, en adultos recién emergidos, al castaño oscuro en la madurez (Arzone y Meotto, 1978).



Figura 1. Adultos de *G. scutellatus*. Fuente: propia.

Los ojos son un poco salientes, con una foseta interocular. Las antenas tienen un escapo corto y el funículo presenta 7 artejos (Mansilla, 1992). En los élitros hay cuatro tubérculos humerales característicos. Las patas tienen las tibiae dentadas en la parte interna y las alas son membranosas. Su tamaño oscila entre 7 y 9 mm de longitud y 4 a 5 mm de ancho, y los machos son más pequeños que las hembras (Tooke, 1953).

Las diferencias entre sexos se reducen a pequeñas modificaciones en el penúltimo y último esternitos, que sólo se aprecian bajo aumento (Santolamazza y Cordero, 1998). Los huevos son subcilíndricos, de 1,2 mm de longitud por 0,5 mm de diámetro, y se agrupan en una cápsula grisácea que contiene 6 a 10 huevos. Las larvas del último estadio miden aproximadamente 12 mm de longitud, son glabras, ápodas, alargadas, de vientre aplanado y convexas dorsalmente, su cabeza es negruzca, su cuerpo es amarillo verdoso con tres bandas longitudinales verde oscuras y está cubierto por un mucílago grisáceo (Figura 2). La pupa, de unos 8 mm de longitud, es blanca y translúcida apenas formada y después de 24 horas se pigmenta de marrón (Arzone y Meotto, 1978).



Figura 2. Larvas de *G. scutellatus* de diferentes estadios. Fuente: propia.

Según Estay *et al.* (2002), *G. scutellatus* puede llegar a tener 3 a 4 generaciones anuales en la zona de San Felipe (V Región de Chile). Los adultos tienen un complejo comportamiento de cópula de duración muy variable (1 a >2 h). Después de un período post-reproductivo de al menos 2 días, la hembra comienza a poner grupos de 6 a 10 huevos recubiertos por una secreción proctodeal. Las hembras ponen entre 180 a 270 huevos distribuidos en 20 a 30 ootecas. El período embrionario dura entre 10 y 20 días, luego de los cuales emergen las larvas; el período larvario dura 30 a 40 días. Cuando las larvas llegan a la madurez buscan el suelo y se entierran a una profundidad de 2 a 2,5 cm para pupar y transformarse en adultos (Vaccaro, 1983). El tiempo transcurrido entre la caída de la larva al suelo y la emergencia del adulto es de 31 días. El adulto tiene una vida media de entre 2 y 6 meses (Cadahía, 1980).

### 3.1.3 Daño

El daño producido por larvas y adultos (Figura 3), consiste en la muerte apical o defoliación del tercio superior de los árboles, la infestación constante del insecto produce pérdida de crecimiento y/o malformación del fuste (Tooke, 1953; Pedrosa, 1993; Ojeda, 1994; Parra y González, 1999). La larva se alimenta del limbo de la hoja y el adulto festonea los bordes y come los brotes terminales (Parra *et al.*, 1998). Según Cadahía (1980) los primeros y segundos estadios larvarios se alimentan de la epidermis de la hoja y los terceros y cuartos comen todo el limbo. Brugnioni (1980) señala que al cabo de cuatro años de infestaciones intensas en árboles de eucalipto, se observa un 30% de

plantas muertas y un notorio raquitismo en las restantes. Otro perjuicio es el debilitamiento de los árboles que los predispone a la infestación de otros insectos, como los cerambícidos del género *Phoracantha* (Cowles y Downer, 1995).

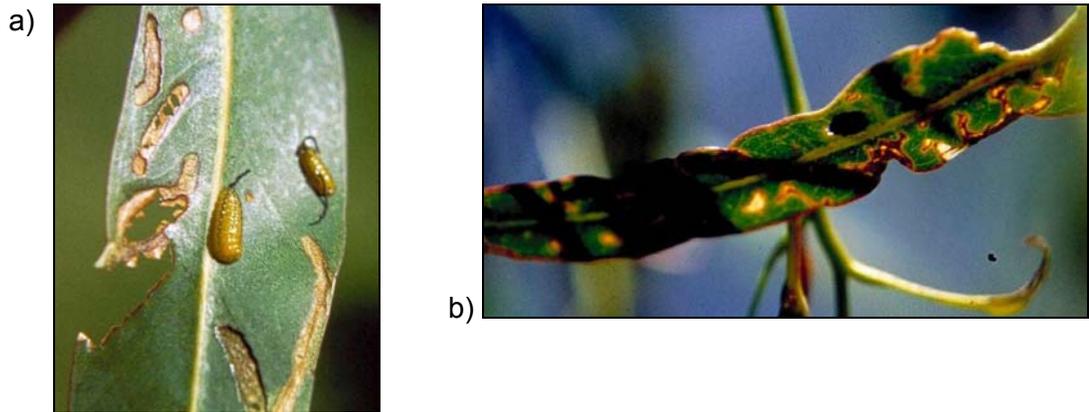


Figura 3. Daño producido por *G. scutellatus*. a) larvas; b) larvas y adultos.

Fuente: propia.

#### 3.1.4 Control biológico

El controlador biológico más exitoso de *G. scutellatus* es el microhimenóptero mimárido *Anaphes nitens* Huber; un parasitoide, originario de Australia, que oviposita en el interior de las ootecas del defoliador y cuyas larvas al nacer se alimentan de los huevos del curculiónido (Hanks *et al.*, 2000). El procedimiento inicial para hacer control biológico de *G. scutellatus* con *A. nitens* consiste en realizar un mantenimiento paralelo de la población de su huésped, la cría de *A. nitens* se hace sobre de las ootecas, que obtenidas de una población controlada del defoliador, son ofrecidas al parasitoide (Pérez *et al.*, 2001).

Según Pérez *et al.* (2001), las condiciones ambientales óptimas para la cría en laboratorio de *G. scutellatus* son 23°C, 75% de humedad relativa y fotoperíodo de 14:10 h (día: noche). Cordero *et al.* (1999) indican que las larvas de *G. scutellatus* emergen a 20-23°C. Por su parte, *A. nitens* requiere para su cría en laboratorio una temperatura entre

23 y 25°C además de una relación de sexos en el interior de la cría de 4:3 (hembras: machos).

En Chile, el Servicio Agrícola y Ganadero hizo control biológico con *A. nitens* durante 1998 liberando de ootecas parasitadas procedentes de Sudáfrica y obtuvo tasas de parasitismo superiores al 90% (Estay *et al.*, 2003). Sin embargo, según estudios en diversas partes del mundo (Tooke, 1953; Cordero *et al.*, 1999; Hanks *et al.*, 2000; Pérez *et al.*, 2001), el parasitoide no consigue mantener una población estable sin la existencia del defoliador y su efectividad se ve bastante comprometida cuando se aproxima el invierno.

## **3.2 Descripción de las especies de eucalipto**

### **3.2.1 *Eucalyptus camaldulensis* Den**

*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., originario de Australia, ha sido introducido con éxito en diversas regiones del mundo; en Chile se ha adaptado a las condiciones más diversas de suelo y clima, ya que es una especie bastante resistente al frío, a la sequía y de rápido crecimiento. En su área de distribución natural se encuentra en zonas desde 200 mm hasta 1.250 mm de precipitación, con temperaturas entre 3 y 35°C (Francis y Lowe, 2000).

Esta especie puede alcanzar entre 20 y 30 m de altura y hasta 2 m de diámetro; presenta copa amplia, tronco grueso y corteza lisa. Hojas alternas, lanceoladas, glabras, de color verde grisáceo, algo coriáceas, de 8 a 30 cm de longitud. Inflorescencias en umbelas de 7 a 11 flores, con numerosos estambres de color blanquecino amarillento. Fruto en cápsula hemisférica con pedicelo fino de 5 a 8 mm de longitud. Semillas pequeñas, de color claro y de menos de 1 mm de diámetro. La madera es moderadamente densa (0,6 g/cm) y se utiliza para construcción, postes, leña, carbón y algunas veces para la fabricación de pulpa y papel. Es una especie muy útil en sistemas agroforestales y para el control de la erosión; también se usa en plantaciones comerciales de rotación corta y para fines ornamentales. Su rendimiento puede llegar a 30 m<sup>3</sup>/ha/año en zonas de crecimiento óptimo (Francis y Lowe, 2000).

### 3.2.2 *Eucalyptus nitens* Maiden

Se desarrolla naturalmente en climas templados de altura, con temperaturas no muy altas en verano e inviernos fríos, con muchas heladas y presencia de nieve, en los estados de Victoria y New South Wales en Australia. Puede soportar temperaturas de hasta -15°C. Crece con una precipitación media anual entre 750 y 1.750 mm, distribuidos en el año, y con máximo en invierno (INFOR, 1986).

El mejor desarrollo de esta especie se observa a 1.000 a 2.000 m.s.n.m. con precipitaciones sobre los 1.000 mm anuales (INFOR, 1986).

Es un árbol de gran desarrollo que llega a 60-70 m de altura y ocasionalmente a 90 m con diámetros de 1 a 2 m y más. Las hojas juveniles son opuestas, sésiles, de forma ovalada a lanceolada, glaucas, muy semejantes a las de *E. globulus*. El tallo de la planta juvenil es de sección cuadrada. Las hojas adultas son alternas, pecioladas y de forma lanceolada a falcada. Los frutos son ovoides, de 0,5-0,7 x 0,5 cm, sésiles, normalmente con tres valvas al nivel del borde, o ligeramente exentas, en grupos de 4 a 7 (INFOR, 1986).

Esta especie ha cobrado gran importancia en Chile debido a su excelente desarrollo, ya que es la de más rápido crecimiento plantada en el país y gran resistencia al frío. Su uso ha aumentado y cada vez se hacen estudios más profundos sobre sus usos potenciales. En su estado natural, tiene una distribución muy discontinua, por lo que presenta una gran variabilidad genética. Las mejores fuentes de semilla para Chile son los bosques de Victoria Central (INFOR, 2006).

La madera seca es casi blanca, liviana para ser de eucalipto. La densidad básica promedio de muestras obtenidas en Chile es de 495 Kg/m<sup>3</sup> y en Australia varía entre 645 y 720 Kg/m<sup>3</sup>. Esto se explica por el rápido crecimiento que presenta en el país. La madera a la intemperie o enterrada es menos durable que la de *E. globulus* (INFOR, 2006).

Se recomienda plantarla en el Valle Central y Precordillera Andina, en áreas con más de 800 mm de precipitación (INFOR, 1986).

### **3.2.3 *Eucalyptus globulus* Labill**

*E. globulus* es la especie del género *Eucalyptus* más plantada en el mundo. Originaria de Australia y Tasmania, posee una gran adaptabilidad climática, aunque su mejor desarrollo se presenta en climas templados. Requiere buen drenaje, baja salinidad y un suelo con una profundidad mayor a 0,6 m. Es algo sensible a las sequías prolongadas y no resiste el frío intenso (Francis y Lowe, 2000).

Puede alcanzar una altura de 40 m y un diámetro de 2 m. Presenta corteza blanquecina que se desprende en tiras en los ejemplares adultos y copa piramidal. Hojas juveniles opuestas, de base cordada, de color gris azulado, de 8 a 15 cm de longitud y 4 a 8 cm de ancho. Hojas adultas alternas, lanceoladas, de 15 a 25 cm de longitud, con el ápice acuminado, textura algo coriácea y de color verde oscuro con nerviación marcada. Flores axilares, solitarias o en grupos de 2 a 3 flores, de hasta 3 cm de diámetro, con numerosos estambres de color blanco. Fruto en cápsula de color glauco y cubierto de un polvo blanquecino, de 1,4 a 2,4 cm de diámetro. Las semillas son negras angulosas, de 2 a 2,5 mm de diámetro (Skolmer y Thomas, 1990).

*E. globulus* es ampliamente utilizada en sistemas agroforestales. Su madera es fuente importante de leña, carbón, postes y material de construcción y es muy usada para obtener pulpa y papel. Otros usos incluyen la extracción de aceites esenciales y productos apícolas a partir de las hojas y flores, respectivamente (Skolmer y Thomas, 1990).

### **3.3 Interacciones planta - insecto**

Las poblaciones dispersas de insectos adultos generalmente llegan al hábitat del hospedero por mecanismos sensoriales y por preferencias de temperatura y humedad. El valor nutritivo de la planta y la ausencia de compuestos tóxicos determinan finalmente que el alimento sea adecuado para sostener los procesos fisiológicos relacionados con el desarrollo y el crecimiento de las larvas, así como con la longevidad y la fecundidad de los adultos; en esta fase priman más los aspectos bioquímicos que los sensoriales (Metcalf y Luckmann, 1992).

Con respecto al párrafo anterior los llamados metabolitos secundarios adquieren gran importancia. Estos se definen como compuestos químicos sintetizados por las plantas que no cumplen funciones esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es fatal para la planta, pero sin embargo, son relevantes en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente. Estos pueden dividirse en tres grandes grupos en base a su origen biosintético: Terpenoides, compuestos fenólicos y alcaloides. Por esto, las características químicas se relacionan estrechamente con los metabolitos secundarios, los cuales actúan como toxinas, compuestos antialimentarios y/o reductores de la digestibilidad, reduciendo el desarrollo de las plagas (Kessler y Baldwin, 2002).

El nivel de daño causado por un insecto a una especie en particular depende del tamaño de la población del insecto y de la capacidad de la planta para soportar el daño. Casi todas las plantas pueden tolerar cierto grado de destrucción de sus hojas sin efectos aparentes en su condición fisiológica. De la misma forma, existen diferencias entre la planta como hospedero de plagas de insectos, y su capacidad para soportar las infestaciones y recuperarse de los daños; estas propiedades están estrechamente ligadas con el concepto de resistencia de la planta como hospedero (Metcalf y Luckmann, 1992).

El método más usado para controlar las plagas es la aplicación de insecticidas de síntesis química, sin embargo, el uso de estos productos puede ser caro y causar daños ambientales (Estruch, 1998). Una alternativa al uso de plaguicidas es la incorporación de árboles resistentes al daño; esta resistencia de las plantas al daño de un insecto en particular puede estar basada en características físicas, químicas o ecológicas.

La variación en la resistencia al ataque de insectos en el género *Eucalyptus* ha sido reportada para un gran número de especies, entre ellas, *E. melliodora*, *E. globulus*, *E. sideroxylon*, *E. camaldulensis*, *E. nitens* y *E. viminalis* (Farrow *et al.*, 1994; Floyd *et al.*, 1994). Adicionalmente, se ha encontrado que en algunas especies de *Eucalyptus* la resistencia al ataque de los coleópteros está relacionada con los compuestos químicos de las hojas (Floyd y Foley, 2001).

### 3.4 Aceites esenciales en eucalipto

Los aceites esenciales se pueden definir como productos volátiles de naturaleza compleja, producidos por ciertos vegetales a los que confieren un olor agradable. De forma oficial, se denominan aceites esenciales los productos que se pueden obtener por arrastre de corriente con vapor de agua o por expresión del pericarpio de ciertos frutos. Habitualmente son denominados como esencias, aunque este concepto 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)

Los aceites esenciales, son generalmente líquidos a temperatura ambiente. La mayoría son prácticamente transparentes, incoloros o coloreados (amarillentos), salvo en ciertas excepciones como el aceite de manzanilla que posee un color azul intenso. En la mayoría de los casos, estos productos, son menos densos que el agua (esencia de clavo y canela son excepciones). Los aceites esenciales son insolubles en agua, aunque en ciertas ocasiones puede que alguno de sus componentes se solubilice parcialmente. Son también lipófilos y solubles en disolventes orgánicos apolares (éter etílico, hexano, etc). Suelen ser solubles en alcoholes de alta graduación. Se oxidan con facilidad y polimerizan formando productos resinosos (Kuklinski, 2000).

Los aceites esenciales pertenecen al grupo de los metabolitos secundarios definidos anteriormente. Son derivados del compuesto IPP (Isopentenil difosfato o "5-carbono isopentenil difosfato") que se forman en la vía del ácido mevalónico. A menudo se asocian a la polinización (atraves 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; Sacchetti *et al.*, 2005).

En las hojas del género *Eucalyptus* el más estudiado y abundante es el monoterpeno 1,8 cineol, conocido como eucaliptol. Esta sustancia puede encontrarse en

concentraciones de hasta 27 mg g<sup>-1</sup> de masa seca, mientras que las concentraciones máximas de cualquiera de los otros terpenos no superan los 3,5 mg g<sup>-1</sup> de masa seca (Floyd y Foley, 2001).

El rendimiento de aceites esenciales en *E. globulus* varía entre 0,45 y 1,65% de masa seca. Dentro de este rango, el eucaliptol varía entre 50 y 80% siendo el componente principal (Kuklinski, 2000).

El eucaliptol actúa además como alelopático, inhibiendo la germinación y el crecimiento de gramíneas. Es liberado por las hojas de varias plantas y arrastrado por las lluvias hasta el suelo. La pobreza ecológica de los bosques de pino y eucalipto respecto a la presencia de insectos, vertebrados y vegetación secundaria revela el papel defensivo de los terpenos, que estas plantas sintetizan profusamente (Gershenzon y Croteau, 1991).

Los metabolitos secundarios como el  $\alpha$ -pineno, el  $\beta$ -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. Esto ocurre distorsionando las cantidades de Sodio usado como neurotransmisor en la sinapsis (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 acompañadas de concentraciones mayores de otros terpenos, como  $\alpha$ -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).

### 3.5 Cromatografía de gases

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 (Skoog y Leary, 1994).

Existen dos tipos de CG: la cromatografía gas-sólido (CGS) y la cromatografía gas-líquido (CGL), que se utiliza más ampliamente, y que se puede llamar simplemente cromatografía de gases (CG). Se aplica en la separación de sustancias gaseosas de bajo peso molecular. La CG utiliza como fase estacionaria moléculas de líquido inmovilizadas sobre la superficie de un sólido inerte (Skoog y Leary, 1994).

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) (Figura 4).

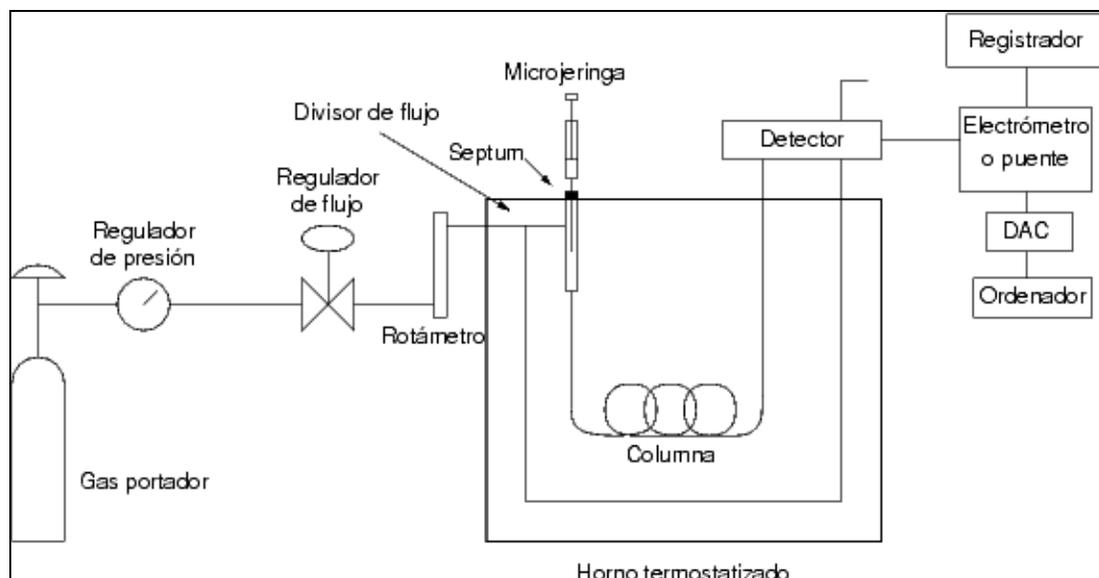


Figura 4. Esquema de un cromatógrafo de gases. Fuente: Skoog y Leary (1994).

El gas portador debe ser inerte, para prevenir su reacción con las sustancias a separar (analito) o con la columna. Generalmente se utilizan gases como el helio, argón, nitrógeno, hidrógeno o dióxido de carbono, y la elección de este gas depende del tipo de detector aplicado. El gas puede provenir desde balones normales o desde un generador, especialmente el caso del nitrógeno e hidrógeno. Luego se tiene un sistema de manómetros y reguladores de presión para garantizar un flujo estable y un sistema de deshidratación del gas, que puede ser un tamiz molecular (Skoog y Leary, 1994).

La regulación de la presión se hace a dos niveles: un primer manómetro se sitúa a la salida del cilindro o generador del gas, y el otro a la entrada del cromatógrafo, donde se regula el flujo. Las presiones de entrada varían entre 10 y 25 psi, lo que da lugar a caudales de 25 a 150 mL/min en columnas de relleno y de 1 a 25 mL/min en columnas capilares. Para comprobar el caudal se puede utilizar un rotámetro o un simple medidor de pompas de jabón, el cual da una medida muy exacta del caudal volumétrico que entra a la columna. La inyección de muestras es un paso crítico, ya que se debe inyectar una cantidad adecuada, e introducirse rápidamente, como un "tapón de vapor", para evitar el ensanchamiento de las bandas de salida, efecto que se da con cantidades elevadas de analito. El método más utilizado contiene una microjeringa (de capacidades de varios microlitros) para introducir el analito en una cámara de vaporización instantánea. Esta

cámara está a 50°C por encima del punto de ebullición del componente menos volátil, y está sellada por una junta de goma de silicona septa o *septum* (Skoog y Leary, 1994).

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Materiales**

En esta investigación se utilizaron hojas de tres especies de eucalipto con uso comercial en Chile y con algún grado de susceptibilidad a *G. scutellatus*. Las especies escogidas fueron: *E. globulus*, *E. nitens* y *E. camaldulensis*. Las hojas de *E. nitens* se colectaron desde un rodal adulto en el Centro Experimental Dr. Justo Pastor León “Pantaniillos”, Comuna de Empedrado, VII Región, perteneciente a la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Chile, durante la última semana de noviembre de 2005. Las hojas fueron almacenadas en bolsas tipo Ziploc, selladas, refrigeradas y transportadas al Laboratorio de Entomología Forestal del Departamento de Silvicultura de la Universidad de Chile, en Santiago. Las hojas de las demás especies se obtuvieron directamente en el Campus Antumapu de la Universidad de Chile en cada medición.

Se usaron individuos adultos de *G. scutellatus* provenientes del Club de Golf Granadillas, en el sector de Sausalito, Viña del Mar, V Región, y del Campus Antumapu de la Universidad de Chile, en Santiago.

### **4.2. Métodos**

#### **4.2.1. Especificaciones previas**

Los insectos adultos se mantuvieron en condiciones ambientales naturales y se alimentaron con hojas frescas de eucalipto, previamente lavadas con hipoclorito de sodio al 15% (Cordero y Santolamazza, 2000). Estos insectos permanecieron en cajas plásticas cerradas de 20 x 20 x 15 cm con hojas frescas hasta que se montó el ensayo (una semana y media).

Cada unidad experimental ocupó una placa Petri, a temperatura ambiente y cubierta con una película de parafilm para permitir el intercambio gaseoso y evitar que el insecto escape.

#### **4.2.2. Preferencias de *G. scutellatus* por especie y estado de desarrollo de hojas**

Para evaluar las preferencias de *G. scutellatus* por distintas especies de eucalipto se hicieron cuatro bioensayos, con cinco repeticiones cada uno. Cada unidad experimental contó con una hoja entera y desarrollada de dos o tres de las especies de eucalipto y un individuo adulto del curculiónido, que se cambiaron periódicamente. Así, cada bioensayo quedó dispuesto de la siguiente manera:

Bioensayo 1. Exposición de hojas de *E. globulus* y *E. camaldulensis* a *G. scutellatus*.

Bioensayo 2. Exposición de hojas de *E. globulus* y *E. nitens* a *G. scutellatus*.

Bioensayo 3. Exposición de hojas de *E. camaldulensis* y *E. nitens* a *G. scutellatus*.

Bioensayo 4. Exposición de hojas de las tres especies *E. globulus*, *E. camaldulensis* y *E. nitens* a *G. scutellatus*.

Debido a que el objetivo de este estudio fue determinar la preferencia por una especie determinada de eucalipto, las plantas de las que se obtuvieron las hojas variaron (dentro de la especie) a través del experimento para disminuir cualquier posible resistencia de un individuo particular.

Las hojas se pesaron cada 84 h (3 días y medio en una balanza analítica de 0,1 mg de precisión y se midió la superficie foliar consumida en un medidor LI-3000 de área foliar durante un período total de 35 días (10 mediciones).

De igual forma, se determinó la preferencia de *G. scutellatus* por hojas jóvenes o desarrolladas, mediante bioensayos por especie, con cinco repeticiones cada uno. En este caso, el objetivo fue conocer los resultados explicados sólo por el estado de desarrollo de la hoja, por lo cual, las hojas de ambos estados se extrajeron durante todo el ensayo de un mismo individuo para cada especie. Cada unidad experimental contuvo una hoja entera de cada estado de desarrollo (dos hojas en total) y un insecto adulto de *G.*

*scutellatus*. Las hojas se pesaron cada 84 h (3 días y medio) y se midió la superficie foliar consumida, durante un período total de 35 días (10 mediciones). Con las diferencias obtenidas en estas mediciones se conoció el comportamiento alimentario del insecto frente a estas especies.

Para el cálculo del peso (g), el valor entregado por la balanza debió ser corregido descontando la pérdida de agua experimentada por las hojas durante los días que duraba cada ensayo. Para ello se utilizaron hojas testigo sin insecto, estimando así una diferencia promedio de pérdida de peso explicada exclusivamente por desecación, la que se descontó al valor indicado en la balanza. El promedio se obtuvo en base a 10 repeticiones por especie. En la Tabla 1 se presentan las pérdidas por deshidratación de las hojas usadas para corregir los valores obtenidos y así posteriormente considerar sólo el peso debido a la alimentación del insecto.

Las variables medidas sólo se compararon dentro de cada bioensayo y no entre cada bioensayo pues son pruebas independientes.

Tabla 1. Pérdida de peso promedio (%) en las hojas por deshidratación según especie de eucalipto (promedios  $\pm$  DE).

<b>Especie de eucalipto</b>	<b>% Pérdida de peso</b>
<i>E. camaldulensis</i>	4,86 $\pm$ 4,06
<i>E. globulus</i>	12,69 $\pm$ 6,43
<i>E. nitens</i>	5,74 $\pm$ 3,86

Para detectar diferencias significativas en los bioensayos de preferencia, ya sea por especie o estado de desarrollo de las hojas se hicieron análisis de varianza para cada bioensayo y cuando existieron diferencias estadísticas se aplicó la prueba de medias de Tukey ( $P < 0,05$ ) para comparar los tratamientos.

#### **4.2.3. Determinación de aceites esenciales**

Se determinaron los aceites esenciales volátiles de hojas adultas de las tres especies de eucalipto estudiadas (dos repeticiones por especie), mediante un

cromatógrafo de gases (Hewlett Packard 5580). Dichas hojas formaron una muestra representativa (para cada especie) colectadas desde rodales aledaños a la Universidad en Concepción, VIII Región, durante agosto y septiembre de 2006. Se optó por medir muestras extraídas en una misma época y localidad descartando así diferencias por período de extracción y lugar de origen.

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.

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.

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. Los resultados se expresaron como porcentaje de la variable área versus el tiempo de retención en minutos.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Preferencia de *G. scutellatus* por hojas de especies de Eucalipto

#### 5.1.1 Preferencia promedio

En los bioensayos de preferencia de *G. scutellatus* por especies de eucalipto medida a través del área foliar consumida (Figura 5), se observó que todas las plantas fueron consumidas por el insecto en algún grado, con una preferencia clara según la especie ofrecida. Si el insecto tuvo a su disposición hojas de *E. globulus* y *E. camaldulensis* prefirió las primeras (casi 70% de preferencia, diferente significativamente ( $P < 0,05$ ) del otro nivel de consumo). Al ofrecerle hojas de *E. globulus* y *E. nitens*, nuevamente *G. scutellatus* prefirió las primeras (~80%), de manera también significativa ( $P < 0,05$ ). Entre *E. camaldulensis* y *E. nitens*, *G. scutellatus* no prefirió ninguna planta en particular (c.u. 50%). Por último, ante hojas de las tres especies simultáneamente, el insecto prefirió mayoritariamente (80%) a *E. globulus*, sobre *E. camaldulensis* y *E. nitens*, con diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

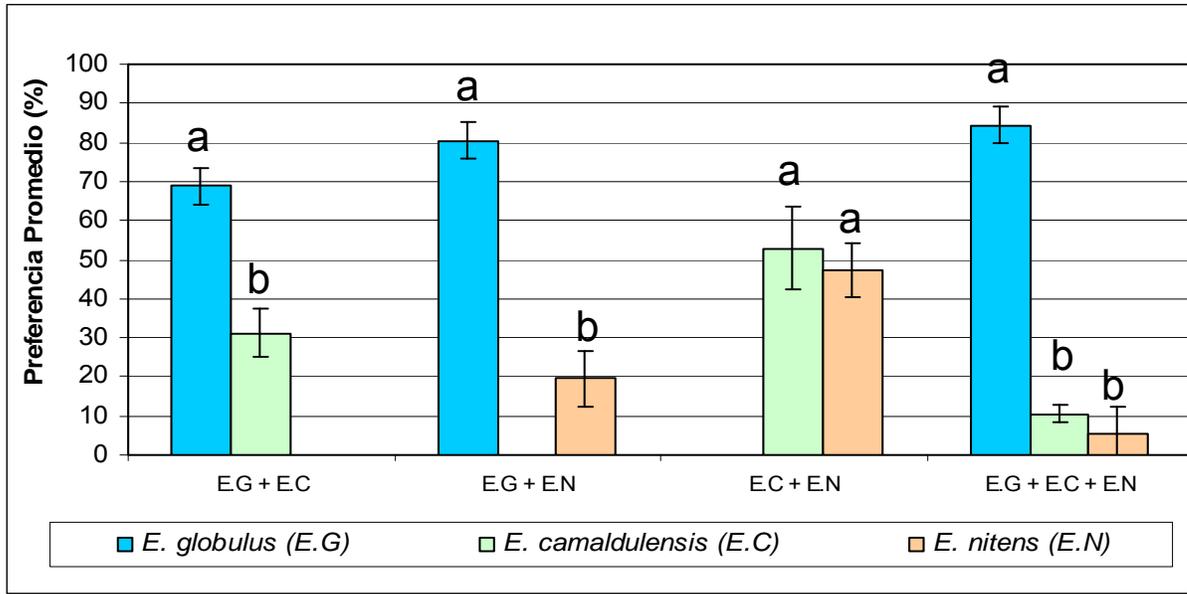


Figura 5. Preferencias promedio (%) de *G. scutellatus* por exposición de hojas de especies de eucalipto, evaluadas según el área foliar consumida por el insecto. Las letras distintas en cada grupo de comparaciones indican diferencias significativas en los bioensayos, según la prueba de Tukey ( $P < 0,05$ ).

En la Figura 6 se presentan los resultados de los bioensayos de preferencias de *G. scutellatus* por especies de eucalipto, evaluadas según el peso fresco consumido por el insecto (menos la pérdida de peso por deshidratación), donde se presentan resultados similares a los de preferencia de consumo.

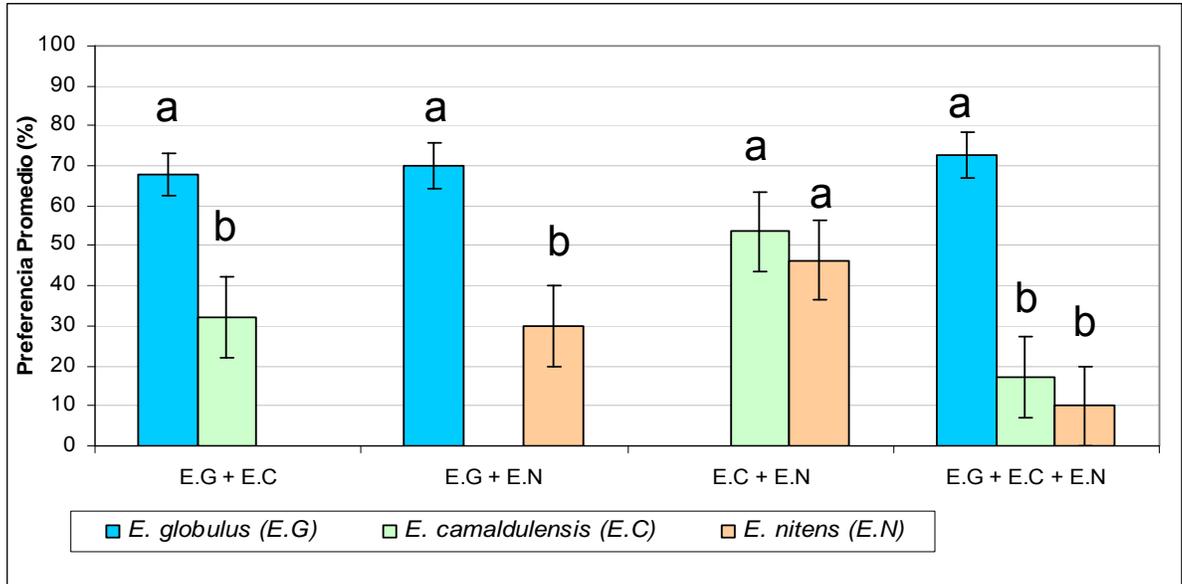


Figura 6. Preferencias promedio (%) de *G. scutellatus* por hojas de especies de eucalipto, evaluadas según peso consumido por el insecto. Las letras distintas en cada grupo de comparaciones indican diferencias significativas entre los bioensayos, según la prueba de Tukey ( $P < 0,05$ ).

### 5.1.2 Evolución diaria de la preferencia

A continuación se describen los resultados obtenidos de las evaluaciones diarias de las preferencias de *G. scutellatus*, según el consumo acumulado de las hojas de eucalipto medido a través del área foliar y peso (Figuras 7, 8, 9 y 10).

Al exponerse a hojas de *E. globulus* y *E. camaldulensis*, *G. scutellatus* consumió más área foliar de las hojas de la primera especie, tendencia que se mantuvo durante los 35 días del ensayo. Esta tendencia se acentuó al evaluar el peso consumido por el insecto de las mismas hojas de eucalipto (Figura 7).

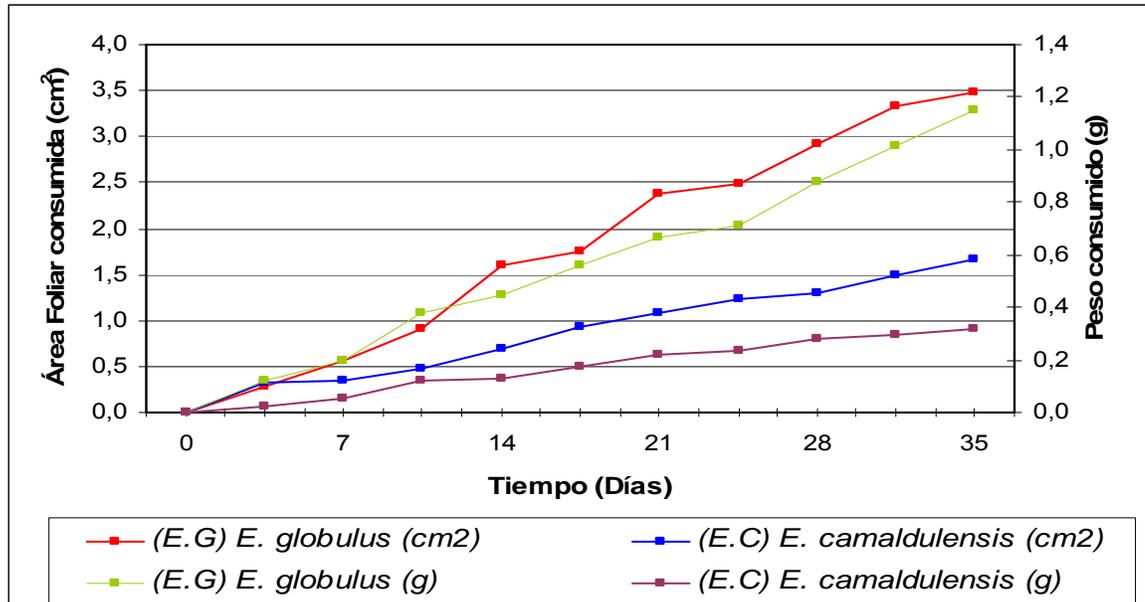


Figura 7. Peso y área foliar consumidos y acumulados por *G. scutellatus* expuestos a hojas de *E. globulus* y *E. camaldulensis* durante 35 días.

Al exponer a *G. scutellatus* a las hojas de *E. globulus* y *E. nitens* se observa una tendencia constante de preferencia hacia *E. globulus* (Figura 8), más marcada que en la diferencia de preferencia.

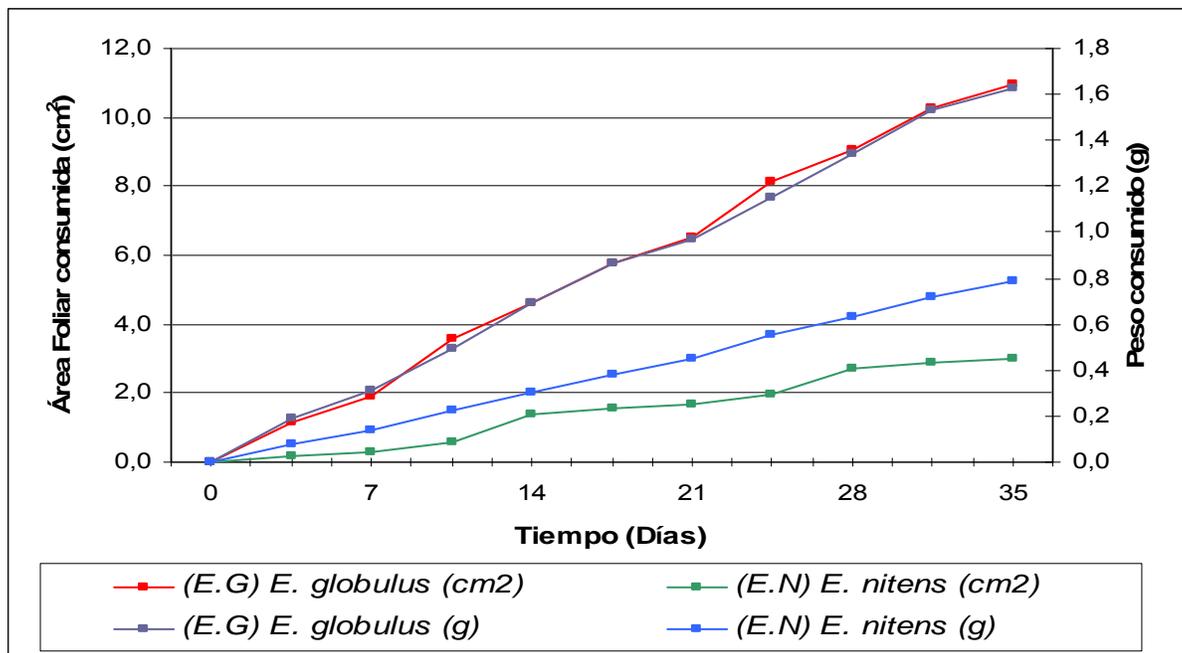


Figura 8. Peso y área foliar consumidos y acumulados por *G. scutellatus* expuestos a hojas de *E. globulus* y *E. nitens* durante 35 días.

En el bioensayo con exposición de follaje hubo un menor consumo acumulado de hojas de *E. camaldulensis* y *E. nitens* por *G. scutellatus*, pero con niveles similares entre ambas plantas durante los 35 días de evaluación. También se aprecia que a partir de la séptima medición aumentó el consumo de hojas de *E. nitens* (Figura 9).

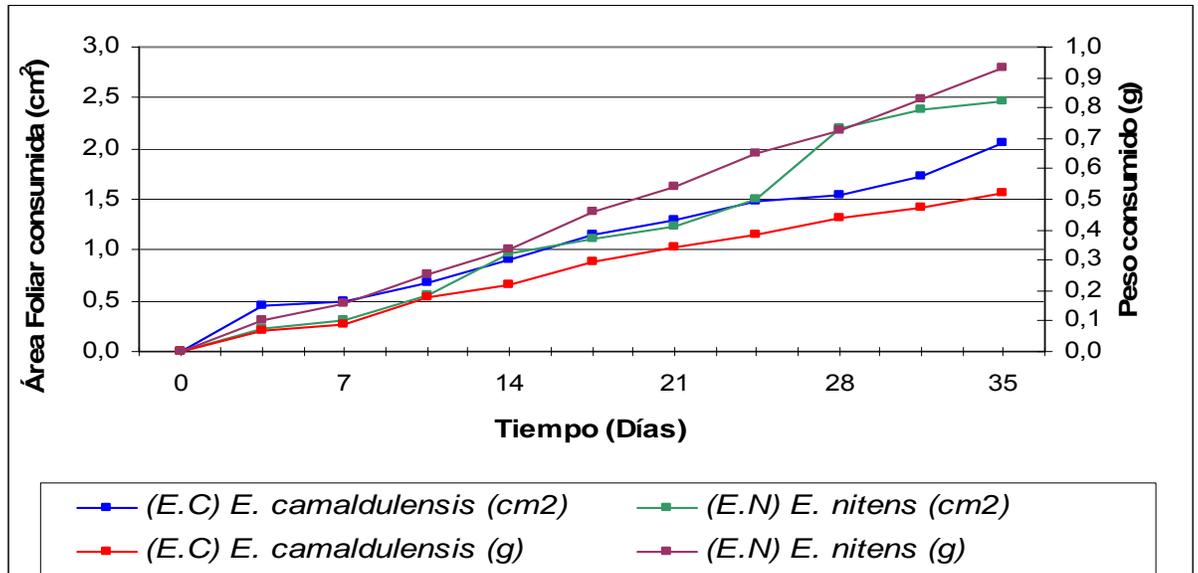


Figura 9. Peso y área foliar consumidos y acumulados por *G. scutellatus* expuestos a hojas de *E. camaldulensis* y *E. nitens* durante 35 días.

Cuando *G. scutellatus* se expuso simultáneamente a hojas de las tres especies de eucalipto hubo una clara preferencia por las hojas de *E. globulus* durante los 35 días de evaluación, tanto a través del área foliar como del peso consumido. El consumo de *G. scutellatus* por hojas de *E. camaldulensis* y *E. nitens* fue inferior durante los días de observación (Figura 10), aunque si se compara el consumo de hojas entre estas dos especies según peso, las hojas de *E. nitens* fueron más consumidas por el insecto que las de *E. camaldulensis*.

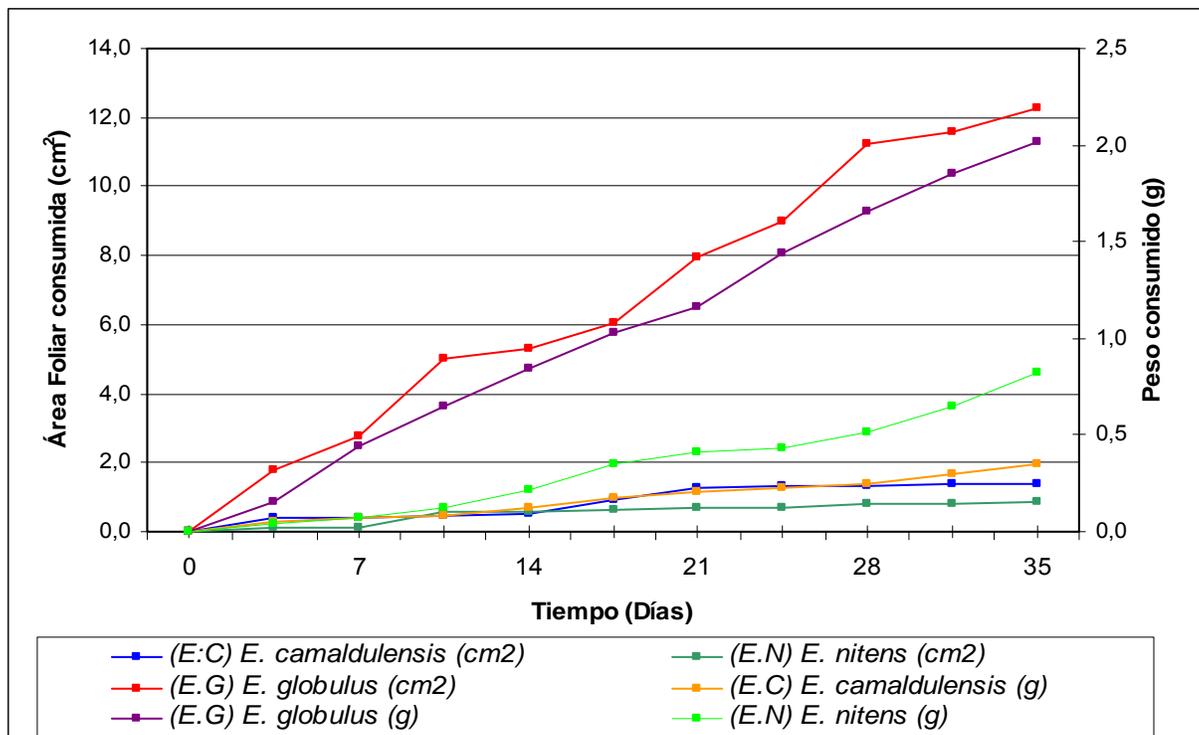


Figura 10. Peso y área foliar consumidos y acumulados por *G. scutellatus*, expuestos a hojas de *E. camaldulensis*, *E. nitens* y *E. globulus* durante 35 días.

## 5.2 Preferencia de *G. scutellatus* según el estado de madurez de las hojas de Eucalipto

En la Figura 11 se observa una marcada preferencia de *G. scutellatus* por hojas jóvenes, independientemente de la especie de eucalipto expuesta. No obstante, la preferencia de este insecto se inclinó hacia las hojas jóvenes de *E. globulus*, sobre las de *E. nitens* y *E. camaldulensis*, las que fueron muy similares entre sí.

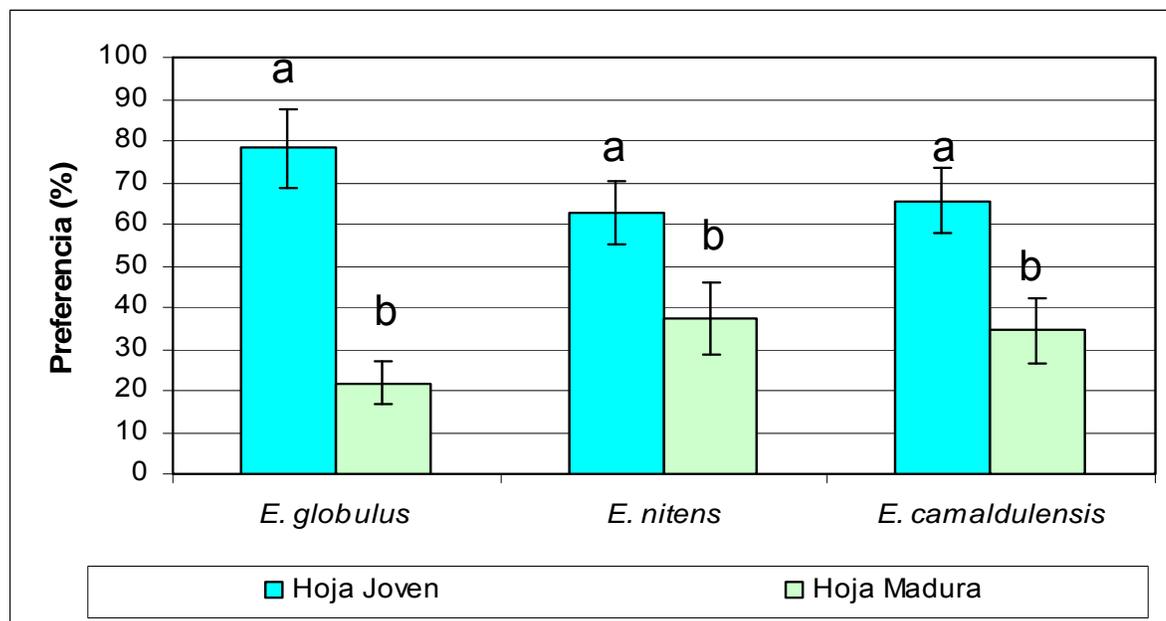


Figura 11. Preferencias de *G. scutellatus* por hojas jóvenes y maduras según especie de Eucalipto. Las letras distintas indican diferencias significativas entre los bioensayos, según la prueba de Tukey ( $P < 0,05$ ).

### 5.3 Aceites esenciales

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 12) se reconocieron cuatro gases:  $\alpha$ -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 campheno y el derivado del azuleno sólo se observaron en *E. globulus*.

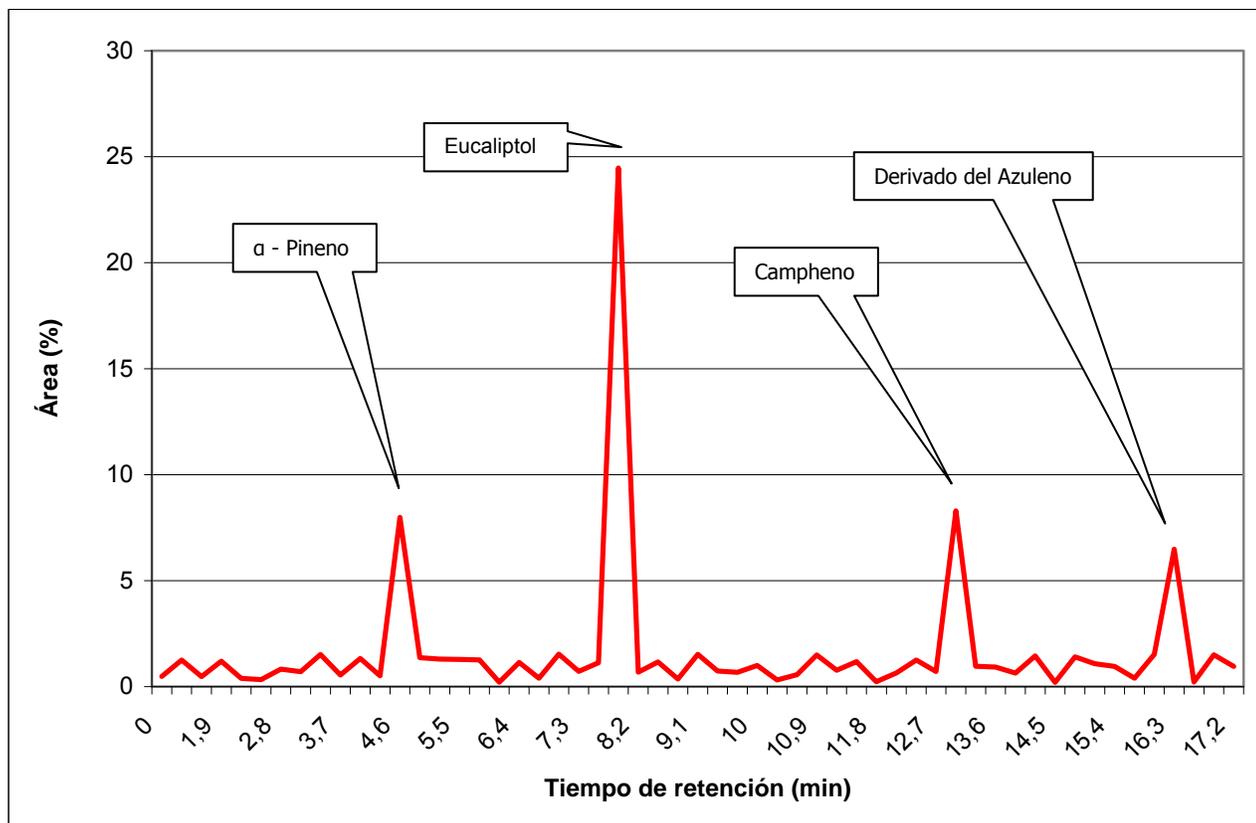


Figura 12. Área (%) de los aceites esenciales de hojas de *E. globulus* según el tiempo de retención (min) durante la cromatografía.

En las hojas de *E. nitens* (Figura 13) se detectaron cuatro aceites esenciales:  $\alpha$ -pineno, eucaliptol,  $\alpha$ -felandreno y cariofileno. El eucaliptol ocupó la mayor proporción en las hojas de esta especie, el doble que en *E. globulus*. Le siguieron el cariofileno,  $\alpha$ -felandreno y por último,  $\alpha$ -pineno, todos ellos en menor proporción (inferior al 12%). Los componentes  $\alpha$ -felandreno y cariofileno se observaron sólo en *E. nitens*.

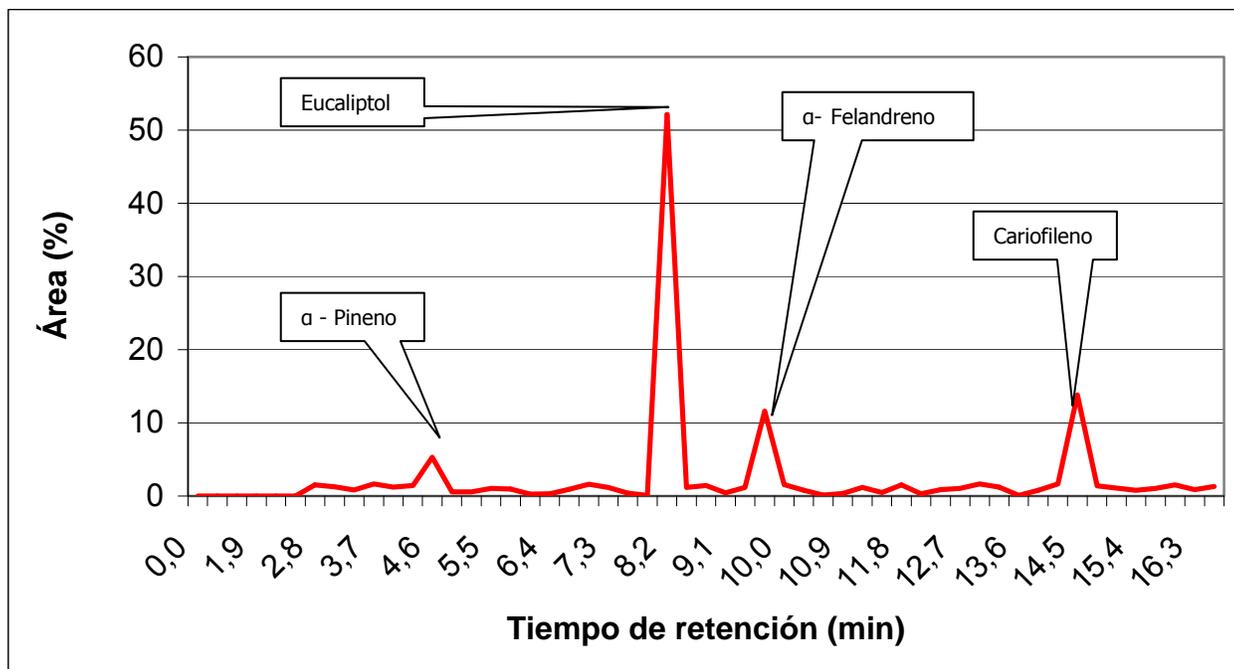


Figura 13. Área (%) de los aceites esenciales de hojas de *E. nitens* según el tiempo de retención (min) durante la cromatografía.

Los aceites esenciales de las hojas de *E. camaldulensis* (Figura 14) 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 se observó sólo en las hojas de *E. camaldulensis*

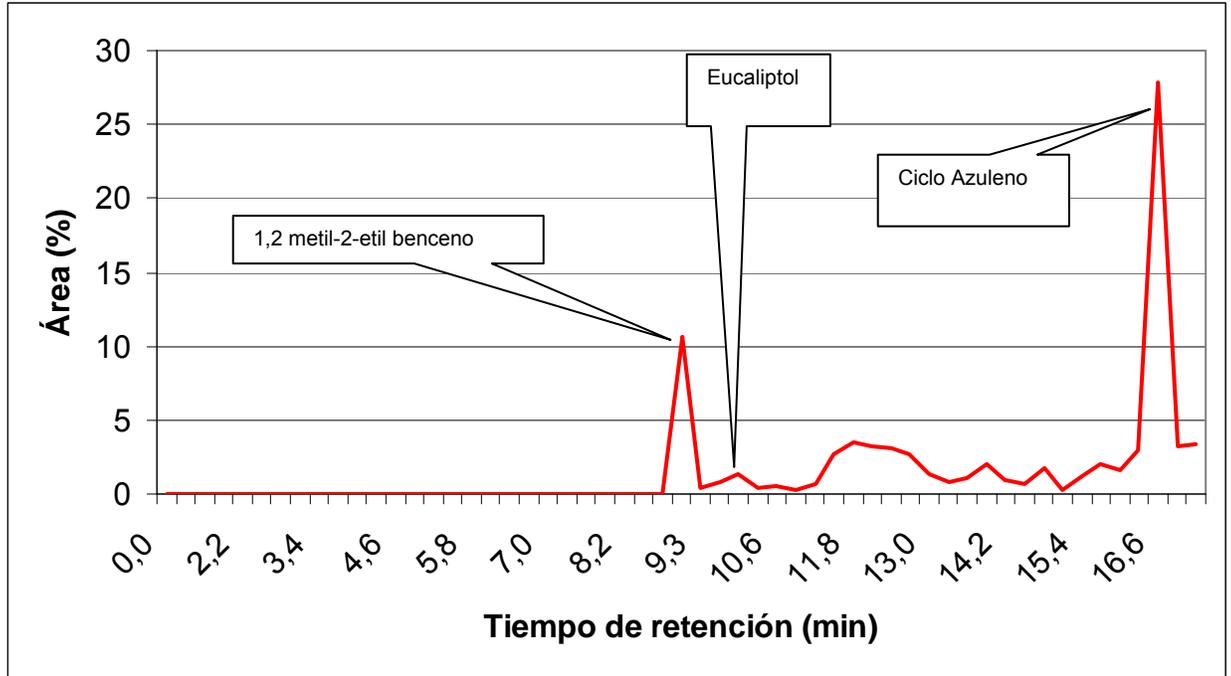


Figura 14. Área (%) de los aceites esenciales de hojas de *E. camaldulensis* según el tiempo de retención (min) durante la cromatografía.

## 6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 6.1 Preferencia de *G. scutellatus* entre hojas de especies de Eucalipto

La variación en la preferencia de insectos en el género *Eucalyptus* se ha descrito en muchas especies, incluyendo *E. mellyiodora* A. Cunn. ex Schauer, *E. sideroxylon* A. Cunn. ex Woolls, *E. camaldulensis*, *E. nitens* y *E. viminalis* (Farrow et al, 1994; Floyd et al, 1994).

Existe variación en la susceptibilidad y se consideran sensibles a *G. scutellatus* *E. globulus*, *E. camaldulensis*, *E. viminalis*, *E. robusta*, *E. punctata*, *E. maideni* y *E. smithi*, resistente a *E. saligna*, e inmune a *E. citriodora* Hook (Romanyk y Cadahia, 2002). Según Floyd y Foley (2001), la resistencia de especies de eucalipto a plagas puede basarse en la composición química de las hojas. En algunos *Eucalyptus*, tales como *E. melliodora*, *E. sideroxylon* y *E. camaldulensis*, se ha observado una relación inversa entre la concentración de 1,8-cineol o bien sideroxilonal en los aceites esenciales de las hojas y la susceptibilidad a fitófagos.

En este estudio la especie mas preferida por los adultos de *G. scutellatus* fue *E. globulus*. Esta susceptibilidad de *E. globulus* coincide con lo indicado por Tooke (1953) y Santolamazza y Cordero (1998). No obstante, Serrano (2003) obtuvo diferencias de área foliar entre plantas de *E. camaldulensis*, *E. globulus* y *E. robusta* infestadas por adultos de *G. scutellatus*, siendo *E. camaldulensis* la especie más vulnerable, seguida por *E. globulus*. Esta discrepancia puede explicarse por el material utilizado. En ese estudio se usaron plantas de un año, las cuales tuvieron capacidad de respuesta. Además, esos insectos no tuvieron la opción de elegir la especie de la que alimentarse, como si ocurrió en este estudio.

Por otro lado, las diferencias en las preferencias de *G. scutellatus* observadas pueden atribuirse a la presencia de metabolitos secundarios de las plantas de eucalipto, los cuales influyen en la atracción de los insectos (Kessler y Baldwin, 2002). En este sentido, la composición de los aceites esenciales de las especies de eucalipto puede

causar diferencias en la susceptibilidad al daño de un insecto en particular (Floyd y Foley, 2001).

## **6.2. Preferencia de *G. scutellatus* según el estado de madurez de las hojas de Eucalipto**

La preferencia de *G. scutellatus* por hojas jóvenes, especialmente de *E. globulus* obtenidas en este estudio, se podrían explicar por la diferencia en la composición química de las hojas jóvenes de *E. globulus*, la que según Matsuky *et al.* (2001) difiere respecto de las hojas maduras. Dajoz (2001) señala que las hojas jóvenes son ricas en agua y en proteínas, pero tienen pocos taninos, en tanto que las hojas maduras son más duras, pobres en agua y proteínas y más ricas en taninos. Sería interesante para un próximo estudio confirmar estas diferencias realizando un análisis de cromatografía (líquida o gaseosa) para comparar las hojas jóvenes y maduras de una misma especie.

## **6.3. Aceites esenciales en eucalipto**

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*, *E.*

*sideroxylon* y *E. polyanthemos* Schauer), en las concentraciones de sideroxylonal y 1,8-cineol existe variación inter e intraespecífica, explicada en parte por diferencias genéticas y ambientales (Floyd y Foley, 2001).

En esta investigación el eucaliptol fue el más abundante de los aceites esenciales en las hojas de las tres especies de eucalipto, principalmente en *E. nitens* con una participación superior al 50%, seguido de *E. globulus*, con 25% y finalmente *E. camaldulensis*, con cerca del 2. La máxima concentración de eucaliptol en las hojas de *E. nitens* coincidió con ser la especie menos apetecida por *G. scutellatus* en los bioensayos. Floyd y Foley (2001) encontraron esta misma relación negativa entre la concentración de eucaliptol y la susceptibilidad de los árboles al daño por herbívoros en otras especies de eucalipto.

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

El eucaliptol se ha aplicado artificialmente a ramas de eucalipto, donde ha detenido inmediatamente la alimentación de escarabajos y los ha alejado o hecho buscar refugio en otro sitio hasta que la concentración de eucaliptol vuelva a los niveles normales (Floyd y Foley, 2001).

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,  $\alpha$ -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 Singaas, 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.

## 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados de preferencia de *G. scutellatus* obtenidos en los bioensayos y del análisis de aceites esenciales de las especies de eucalipto se concluye que:

- *G. scutellatus* tuvo una preferencia marcada por hojas de *E. globulus* cuando estuvo expuesto también a hojas de *E. camaldulensis* o *E. nitens* (o ambas a la vez), siendo estas diferencias significativas.
- Este insecto presentó una preferencia notable por hojas jóvenes de las tres especies estudiadas, destacando nuevamente su predilección por las de *E. globulus* la especie más susceptible al daño del insecto.
- El eucaliptol fue el aceite esencial más abundante en las hojas de eucalipto principalmente en *E. nitens*, con más del 50%, seguido por *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  $\alpha$ -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.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Arzone, A. y Meotto, F. 1978. Reperti biologici su *Gonipterus scutellatus* Gyll. (Col, Curculionidae) infestate gli eucalipti della riviera ligura. REDIA 61:205-222.
- Brugnoni, H. 1980. Plagas forestales, zoofitófagos que atacan las principales especies forestales naturales y cultivadas en la República Argentina. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires. 216p.
- Bruneton, J (2001). Aceites esenciales. Factores de variabilidad de los aceites esenciales. En: Farmacognosia. Pp:488-491. Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- Cadahía, D. 1980. Proximidad de dos nuevos enemigos de los eucaliptos en España. Boletín Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fitopatológica 6(29):175-180.
- Cordero, A.; Santolamazza, S. y Andrés, 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. y 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. y Downer, J. 1995. *Eucalyptus* snout beetle detected in California. California Agriculture 49 (1): 38-40.
- Dajoz, R. 2001. Entomología Forestal: los insectos y el bosque. Ediciones Mundi Prensa, Madrid. 548 p.
- Dungey, H.S., and B.M. Potts. 2003. *Eucalypt* hybrid susceptibility to *Gonipterus scutellatus* (Coleoptera: Curculionidae). Austral Ecol. 28: 70–74.
- Estay, S. 2001. Determinación del ciclo biológico de *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera, Curculionidae) en la Provincia de San Felipe V Región. Memoria Ingeniero Forestal. Universidad de Chile, Santiago. 50p.

Estay, S.; Araya, J. y Guerrero, M. 2002. Biología de *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae) en San Felipe, Chile. Boletín de Sanidad Vegetal Plagas 28 (3): 391-397.

Estay, S.; Araya, J. y Guerrero, M. 2003. El Gorgojo del Eucalipto. Chile Forestal 295: 34-35.

Estruch, J. 1998. Plantas resistentes a insectos. Investigación y Ciencia 257: 46-53.

Farrow, R.; Floyd, R. y Neumann, F. 1994. Inter-provenance variation in resistance of *E. globulus* juvenile foliage to insect feeding. Australian Forestry 57: 65-68.

Floyd, R.; Farrow, R. y Neumann, F. 1994. Inter and intra-provenance variation in resistance of red gum foliage to insect feeding. Australian Forestry 57: 45-48.

Floyd, R.; Foley, J. 2001: Identifying pest resistant eucalyptus using near-infrared spectroscopy. RIRDC Publication 01/112, Canberra, Australia.

Francis, J. y Lowe, C. 2000. Bioecología de árboles nativos y exóticos de Puerto Rico y las Indias Occidentales. [en línea]. United States Department of Agriculture. Forest Service. <<http://www.fs.fed.us/global/iitf/native.htm>> [consulta: 11 mayo de 2008].

Gershenzon, J. y Croteau, R. 1991. Terpenoids. En: Rosenthal, G.S. y Berenbaum, M.R. eds. Herbivores, their interaction with secondary metabolites. Academic Press, New York. Pp.: 169-219.

Hanks, L.; Millar, J.; Paine, T. y Campbell, C. 2000. Classical Biological Control of the Australian Weevil *Gonipterus scutellatus* (Coleoptera: Curculionidae) in California. Environmental Entomology 29(2): 369-375.

Instituto Forestal (INFOR). 1986. Especies forestales exóticas de interés económico para Chile. Instituto forestal. Corporación de Fomento de la Producción. 168 p.

Instituto Forestal (INFOR). 2006. Estadísticas Forestales 2005. Boletín estadístico 111. Santiago. Chile. 165p.

Kessler, A. y 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. Ediciones Omega S.A. Barcelona. Pp.134-143.

Lee, B. H.; Choi, W.S.; Lee, S. E. y Park, B. S. 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.

Matsuky, M.; Farrow, R. y Floyd, R. 2001. Within species variation in insect damage and growth in *Eucalyptus globulus*. En: FLOYD, R. y FOLEY, J. (Eds.). Identifying pest resistant Eucalyptus using near-infrared spectroscopy. RIRDC Publication 01/112, Canberra, Australia.

Metcalf, R. y Luckman, W. 1992. Introducción al Manejo de Plagas de Insectos. México, D.F., Editorial LIMUSA S.A. 710 p.

Ojeda, P. 1994. *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal. Insecto defoliador de *Eucalyptus*. Nota Técnica CONAF No. 22. 8 p.

Parra, P.; Valencia, J. y González, M. 1998. Manual de Detección y Evaluación Sanitaria en Eucalipto. INFOR. Manual No. 24. 125 p.

Parra, P. y González, M. 1999. Gorgojo del Eucalipto. INFOR. Informativo Sanitario Forestal No. 2. 13 p.

Pedrosa, J. 1993. Pragas florestais do sul do Brasil in Manual de Pragas em Florestas 2: 76-79.

Pérez, R.; Mansilla, M. y Salinero, M. 2001. Evaluación de daños causados por *Gonipterus scutellatus* Gyll. en Galicia. III Congreso Forestal Español – Sierra Nevada. 25-28 de septiembre de 2001. (en línea) [http://www.efadip.org/es/Publicaciones/Posters/2001/2001%20Granada/2001Granada\\_Gonipterus.htm](http://www.efadip.org/es/Publicaciones/Posters/2001/2001%20Granada/2001Granada_Gonipterus.htm). (Consulta 22 de enero de 2008).

- Richardson, K. y Meakins, R. 1986. Inter and intra-specific variation in the susceptibility of Eucalypts to the Snout Beetle *Gonipterus scutellatus* Gyll. (Coleoptera: Curculionidae). South African Forestry Journal 139:21-31.
- Romanyk, N. y D. Cadahia. 2002. Plagas de insectos en las masas forestales. Ediciones Mundi Prensa, Madrid. 336 p.
- Ramezani, H.; Singh, H. P.; Batish, D. R. y Kohli, R. K. 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. y 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. y Cordero, A. 1998. Sperm competition, cryptic female choice and prolonged mating in the Eucalyptus snout beetle, *Gonipterus scutellatus* (Coleoptera, Curculionidae). Etiología 6: 33-40.
- Serrano, M. 2003. Perfiles electroforéticos de proteínas asociadas al Gorgojo del Eucalipto *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Col., Curculionidae) en función del daño. Tesis Magíster en Ciencias Forestales. Universidad de Chile. Santiago. 60 p.
- Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). 2006. Informativo Fitosanitario Forestal N°3. Año 2. Unidad de Vigilancia y Control de Plagas Forestales y Exóticas Invasoras. Ministerio de Agricultura, Santiago, Chile. 4p.
- Sharkey, T.D., Singsaas, E.L. 1995. Why plants emit isoprene. Nature 374: 769.
- Skolmer, R. y Thomas, L. 1990. *Eucalyptus globulus* Labill. Bluegum eucalyptus. En: Burns, R.; Honkala, B. (Eds). Silvics of North America: 2. Hardwoods. Agriculture Handbook 654. U.S. Department of Agriculture, Forest Service: 299-304.
- Skoog, D. y Leary, J. 1994. Análisis Instrumental. 4ta ed.; Mc Graw Hill-Interamericana de España S.A. Madrid, España, p. 935.

Tooke, F. 1953. The Eucalyptus snout beetle, *Gonipterus scutellatus* Gyll. A study of its ecology and control by biological means. Entomology Memoirs, Department of Agriculture, Union of South Africa. 3: 1-282.

Vaccaro, N. 1983. Los gorgojos del Eucalipto. Boletín Informativo Estación Experimental Agropecuaria de Concordia. INTA, 3p.

Vivanco, J.M., E. Cosio, V.M. Loyola-Vargas, y H.E. Flores. 2005. Mecanismos químicos de defensa en las plantas. Investigación y Ciencia 341(2): 68-75.

## 9. APÉNDICES

### Apéndice 1: Datos de peso (g) en hojas testigo para determinar el peso perdido por humedad

Especie		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>E. camaldulensis</i>	Peso antes	0,709	0,633	0,473	0,400	0,501	0,410	0,581	0,443	0,564	0,637
	Peso después	0,621	0,608	0,464	0,397	0,497	0,398	0,545	0,395	0,551	0,601
	<b>% Pérdida</b>	<b>12,41</b>	<b>3,89</b>	<b>1,90</b>	<b>0,75</b>	<b>0,80</b>	<b>2,93</b>	<b>6,13</b>	<b>10,84</b>	<b>2,30</b>	<b>5,65</b>
<i>E. globulus</i>	Peso antes	0,905	1,190	0,838	0,805	0,640	0,813	0,787	0,678	0,672	0,915
	Peso después	0,65	1,000	0,763	0,733	0,602	0,714	0,692	0,593	0,587	0,862
	<b>% Pérdida</b>	<b>28,18</b>	<b>15,97</b>	<b>8,90</b>	<b>8,90</b>	<b>5,94</b>	<b>12,17</b>	<b>12,07</b>	<b>12,57</b>	<b>12,57</b>	<b>5,79</b>
<i>E. nitens</i>	Peso antes	0,59	1,408	0,918	1,000	1,227	0,790	0,987	1,166	0,786	1,331
	Peso después	0,567	1,368	0,834	0,929	1,207	0,739	0,917	1,133	0,676	1,300
	<b>% Pérdida</b>	<b>3,9</b>	<b>2,84</b>	<b>9,15</b>	<b>7,10</b>	<b>1,60</b>	<b>6,46</b>	<b>7,10</b>	<b>2,83</b>	<b>14,07</b>	<b>2,33</b>

### Apéndice 2: Parámetros estadísticos para el Bioensayo uno

R (coeficiente de correlación)	0,885
R <sup>2</sup> (coeficiente de determinación)	0,783
R <sup>2</sup> aj. (coeficiente de determinación ajustado)	0,756
SCR	979,448

Pruebas de comparaciones múltiples para la variable especie:

Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con un intervalo de confianza de 95,00 %:

Categorías	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr. > Dif	Significativo
<i>E. globulus</i> - <i>E. camaldulensis</i>	37,580	5,370	2,306	0,001	Sí

Valor crítico de Tukey: 3,261

Categorías	Media	Agrupamientos	
t1	68,760	A	
t2	31,180		B

**Apéndice 3: Parámetros estadísticos para el Bioensayo dos**

R (coeficiente de correlación)	0,897
R <sup>2</sup> (coeficiente de determinación)	0,804
R <sup>2</sup> aj. (coeficiente de determinación ajustado)	0,780

Pruebas de comparaciones múltiples para la variable especie:  
 Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con un intervalo de confianza de  
 95,00 %:

Categorías	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr. > Dif	Significativo
<i>E. globulus</i> - <i>E. nitens</i>	61,000	5,735	2,306	0,001	Sí

Valor crítico de Tukey: 3,261

Categorías	Media	Agrupamientos	
<i>E. glob</i>	80,500	A	
<i>E. nitens</i>	19,500		B

**Apéndice 4: Parámetros estadísticos para el Bioensayo tres**

R (coeficiente de correlación)	0,124
R <sup>2</sup> (coeficiente de determinación)	0,015
R <sup>2</sup> aj. (coeficiente de determinación ajustado)	-0,108
SCR	5003,501

Pruebas de comparaciones múltiples para la variable especie:

Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con un intervalo de confianza de 95,00 %:

Categorías	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr. > Dif	Significativo
<i>E. camaldulensis</i> - <i>E. nitens</i>	5,602	0,354	2,306	0,732	No

Valor crítico de Tukey: 3,261

Categorías	Media	Agrupamientos
<i>E. camald</i>	52,800	A
<i>E. nitens</i>	47,198	A

**Apéndice 5: Parámetros estadísticos para el Bioensayo cuatro**

R (coeficiente de correlación)	0,975
R <sup>2</sup> (coeficiente de determinación)	0,950
R <sup>2</sup> aj. (coeficiente de determinación ajustado)	0,942
SCR	1123,672

Pruebas de comparaciones múltiples para la variable especie:

Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con un intervalo de confianza de 95,00 %:

Categorías	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr. > Dif	Significativo
<i>E. globulus</i> - <i>E. nitens</i>	82,500	13,480	2,668	0,000	Sí
<i>E. globulus</i> - <i>E. camaldulensis</i>	77,260	12,624	2,668	0,000	Sí
<i>E. camaldulensis</i> - <i>E. nitens</i>	5,240	0,856	2,668	0,677	No

Valor crítico de Tukey: 3,773

Categorías	Media	Agrupamientos	
<i>E. glob</i>	87,740	A	
<i>E. camald</i>	10,480		B
<i>E. nitens</i>	5,240		B

#### Apéndice 6: Parámetros estadísticos para el Ensayo de edad uno (*E. globulus*)

R (coeficiente de correlación)	0,941
R <sup>2</sup> (coeficiente de determinación)	0,886
R <sup>2</sup> aj. (coeficiente de determinación ajustado)	0,871
SCR	1026,136

Pruebas de comparaciones múltiples para la variable especie:

Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con un intervalo de confianza de 95,00 %:

Categorías	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr. > Dif	Significativo
joven ~ madura	56,360	7,868	2,306	0,001	Sí

Valor crítico de Tukey: 3,261

Categorías	Media	Agrupamientos	
Joven	78,180	A	
Madura	21,820		B

**Apéndice 7: Parámetros estadísticos Ensayo de edad dos (*E. nitens*)**

R (coeficiente de correlación)	0,794
R <sup>2</sup> (coeficiente de determinación)	0,631
R <sup>2</sup> aj. (coeficiente de determinación ajustado)	0,585
SCR	942,840

Pruebas de comparaciones múltiples para la variable especie:

Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con un intervalo de confianza de 95,00 %:

Categorías	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr. > Dif	Significativo
Joven ~ Madura	25,400	3,699	2,306	0,006	Sí

Valor crítico de Tukey: 3,261

Categorías	Media	Agrupamientos	
Joven	62,700	A	
Madura	37,300		B

**Apéndice 8: Parámetros estadísticos Ensayo de edad tres (*E. camaldulensis*)**

R (coeficiente de correlación)	0,884
R <sup>2</sup> (coeficiente de determinación)	0,781
R <sup>2</sup> aj. (coeficiente de determinación ajustado)	0,754
SCR	677,984

Pruebas de comparaciones múltiples para la variable especie:

Tukey (HSD) / Análisis de las diferencias entre grupos con un intervalo de confianza de 95,00 %:

Categorías	Diferencia	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr. > Dif	Significativo
Joven ~ Madura	31,120	5,345	2,306	0,001	Sí

Valor crítico de Tukey: 3,261

Categorías	Media	Agrupamientos	
Joven	65,560	A	
Madura	34,440		B