

# Anatomía y química foliar en especies ornamentales de Arecaceae: posibles barreras a la alimentación de *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae)

## Leaf anatomy and chemistry in ornamental Arecaceae species: possible barriers to *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) feeding

CARLOS VÁSQUEZ<sup>1\*</sup>, ZURICH EGURROLA<sup>1</sup>, ROSARIO VALERA<sup>2</sup>, MARÍA E. SANABRIA<sup>2</sup> & YELITZA COLMENÁREZ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Decanato de Agronomía. Departamento de Ciencias Biológicas. Barquisimeto, estado Lara. Venezuela.

<sup>2</sup>Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Postgrado de Agronomía.

<sup>3</sup>CABI Brasil. UNESP- Fazenda Experimental Lageado Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais. Rua José Barbosa de Barros, 1780, Botucatu – São Paulo, Brazil.

\*carlosvasquez@ucla.edu.ve

### RESUMEN

El ácaro rojo de las palmeras, *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae), ha sido reportado en 91 especies vegetales hospederas en el Neotrópico. Sin embargo su potencial para alimentarse sobre estas especies puede variar con las características anatómicas y fitoquímicas, las cuales podrían tener influencia en el desarrollo y reproducción del ácaro. En tal sentido fueron evaluadas características anatómicas como ancho de la cutícula-epidermis abaxial, profundidad y ancho del mesófilo, índice y densidad estomática, como también la concentración de grupos de metabolitos secundarios (MS) obtenida por cromatografía de capa fina como posibles barreras para la alimentación del ácaro en 11 especies de Arecaceae de importancia ornamental *Coccothrinax barbadensis* (Lodd. ex Mart.) Becc., *Cocos nucifera* L., *Mauritia flexuosa* L. f., *Roystonea oleracea* (Jacq.) O.F. Cook, *Sabal mauritiiiformis* (Karsten) Griseb. & Wendl, *Syagrus amara* (Jacq.) Mart., *S. coronata* (Mart.) Becc., *S. romanzoffiana* (Cham.) Glassman, *S. sancona* H. Karsten, *S. schizophylla* (Mart.) Glassman, *S. stenopetala* Burret. Aunque fueron detectadas diferencias en el espesor de la cutícula y profundidad del mesofilo, éstas no parecen representar una barrera para la alimentación de *R. indica*. Al contrario, la disposición de los estomas sobre la superficie de la lámina foliar pudiera facilitar la introducción del infra-capítulo y el estilete. Estudios más detallados sobre la anatomía y composición química de las especies de Arecaceae y de Zingiberales se deberían realizar para determinar su efecto en el desarrollo y reproducción del ácaro rojo de las palmeras.

**PALABRAS CLAVE:** Palmeras, ácaro rojo, metabolitos secundarios, estomas.

### ABSTRACT

The red palm mite, *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae), has been reported on 91 host plant species in Neotropical region. However, potential to feed on these plant species depends on anatomical and chemical characteristics, which can influence mite development and reproduction. Thus, in this study anatomical features such as cuticle-epidermis width, mesophyll depth and width, stomatal index and density; and also secondary metabolites (SM) concentration obtained by thin layer chromatography were evaluated as potential barriers to mite feeding in 11 ornamental important Arecaceae species *Coccothrinax barbadensis* (Lodd. ex Mart.) Becc., *Cocos nucifera* L., *Mauritia flexuosa* L. f., *Roystonea oleracea* (Jacq.) O.F. Cook, *Sabal mauritiiiformis* (Karsten) Griseb. & Wendl, *Syagrus amara* (Jacq.) Mart., *S. coronata* (Martius) Becc., *S. romanzoffiana* (Cham.) Glassman, *S. sancona* H. Karsten, *S. schizophylla* (Mart.) Glassman and *S. stenopetala* Burret. Although differences in cuticle and depth mesophyll were detected, these variables seem not to represent a feeding barrier for *R. indica* feeding. Conversely, stomata disposition on leaf surface could make infra-capitulum and stylets easier to penetrate and feed. More detailed studies on anatomy and chemical composition of Arecaceae and Zingiberales species should be addressed to determine their effect on red palm mite's development and reproduction.

**KEYWORDS:** Palms, red palm mite, secondary metabolites, stomata.

## INTRODUCCIÓN

El ácaro rojo de las palmeras, *Raoiella indica* Hirst, ocasiona daños severos en especies de Arecaceae, tales como las plantas de coco (*Cocos nucifera* L.) (Rodríguez *et al.* 2007), y otras familias botánicas (Flechtmann & Etienne 2004, 2005, Etienne & Flechtmann 2006), incluyendo Musaceae, Heliconiaceae y Strelitziaceae que crecen cerca de plantaciones de coco, con altos niveles de infestación (Roda *et al.* 2008). Debido al potencial del ácaro para producir daños ecológicos y económicos en plantas propias de la región Neotropical, ha surgido interés en la determinación de las consecuencias del establecimiento de *R. indica* (Carrillo *et al.* 2012). Cocco & Hoy (2009) mostraron una lista de 72 especies de plantas hospederas de *R. indica*, en la cual se incluyen siete especies de dicotiledóneas (=Magnoliopsida) de las familias Aceraceae, Celastraceae, Fabaceae, Lamiaceae, Myrtaceae y Oleaceae. Sin embargo, de acuerdo a Carrillo *et al.* (2012), en el Neotrópico sólo especies monocotiledóneas (=Liliopsida) de las familias Arecaceae, Heliconiaceae, Musaceae, Zingiberaceae, Strelitziaceae y Pandanaceae podrían servir como hospederas. Las divergencias en cuanto a la amplitud del rango de plantas hospederas podría deberse a la existencia de diversas especies de *Raoiella* y a diferencias en las características morfológicas y biológicas (Dowling *et al.* 2012).

Las características morfo-químicas de las plantas pueden afectar la capacidad de una especie fitófaga para causar daño (Crooker 1985) y están asociadas con mecanismos de defensa, cuya expresión y estabilidad dependen tanto del genotipo como de la plaga y de las interacciones genéticas entre ambos (De Ponti 1985, Dent 2000).

Desde el punto de vista morfo-anatómico, la presencia de tricomas, glándulas, el ancho de la epidermis y de la cutícula en la lámina foliar pueden constituir barreras físicas para la alimentación de los fitófagos (Bailey *et al.* 1978, Dalin *et al.* 2008, Müller 2008), afectando consecuentemente su sobrevivencia. Por otra parte, la presencia de grupos de metabolitos secundarios (MS), tales como los compuestos fenólicos, también pueden afectar la sobrevivencia y fecundidad de los ácaros (De Ponti 1985). El efecto de los MS sobre la resistencia de la planta frente a patógenos (virus, bacterias, hongos) y herbívoros (artrópodos y vertebrados) ha sido ampliamente estudiado (Wink 1998, Rodríguez & Sanabria 2005) y, en general, estos compuestos se sintetizan vía rutas metabólicas que conllevan a la formación de otros, usualmente característicos de un grupo taxonómico de plantas. Su síntesis está restringida a estados específicos de desarrollo, a periodos de estrés causados por deficiencia de nutrientes o al ataque de otros herbívoros (Wink 1998, Theis & Lerdau 2003).

Debido a que la información sobre la potencialidad de las especies de palmeras ornamentales de importancia

económica, principalmente las endémicas de Sudamérica, para servir como hospederas de *R. indica* es escasa, se evaluaron las características anatómicas y fitoquímicas en hojas de especies de Arecaceae de manera de inferir el posible impacto de *R. indica* sobre especies ornamentales de esta familia botánica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### RECOLECCIÓN Y CRÍA DE *RAOIELLA INDICA*

El ácaro rojo de las palmeras fue recolectado en plantas de *Adonia merrillii* en Barquisimeto, estado Lara, Venezuela. Las muestras de hojas con ácaros fueron envueltas en papel absorbente, colocadas en bolsas plásticas con cierre hermético y llevadas al laboratorio.

Para la obtención de una cohorte de edad homogénea, los ácaros fueron reproducidos en unidades de cría siguiendo la metodología de Rivero & Vásquez (2009). Cada unidad de cría consistió de una lámina de poliuretano (100 cm<sup>2</sup>) sobre la cual fueron colocados cuatro discos de hoja (3 cm de diámetro) de cada especie de palmera estudiada, con la cara abaxial hacia arriba. Cada disco de hoja fue bordeado con una banda de algodón humedecido con agua destilada para evitar el escape de los ácaros y mantener la turgencia de la hoja. Diariamente, tanto el poliuretano como la banda de algodón fueron saturados con agua destilada. Sobre cada disco foliar se colocó 20 hembras adultas de *R. indica*, las cuales se observaron a intervalos de 6 h. Una vez obtenido el número de huevos/arena suficiente para iniciar el estudio, se descartó a las hembras y los huevos fueron observados cada 12 horas bajo lupa estereoscópica para registrar el tiempo de desarrollo hasta el estado adulto.

### MATERIAL VEGETAL

El material vegetal utilizado para la caracterización anatómica y fitoquímica consistió en hojas de *Coccothrinax barbadensis* (Lodd. ex Mart.) Becc., *Mauritia flexuosa* L.f., *Roystonea oleracea* (Jacq.) O.F. Cook, *Sabal mauritiformis* (Karsten) Griseb. & Wendl, *Syagrus amara* (Jacq.) Mart., *Syagrus coronata* (Mart.) Becc., *S. romanzoffiana* (Cham.) Glassman, *S. sancona* H. Karsten, *S. schizophylla* (Mart.) Glassman y *S. stenopetala* Burret, recolectadas en el Palmetum del Postgrado de Agronomía de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA). Adicionalmente, se colectó muestras foliares de coco (*Cocos nucifera* L.) que fueron usadas como control. Las muestras fueron tomadas del estrato medio donde están las hojas maduras (Roda *et al.* 2012). En palmeras con hojas compuestas (*C. nucifera*, *R. oleracea*, *S. amara*, *S. coronata*, *S. romanzoffiana*, *S. sancona*, *S. schizophylla* y *S. stenopetala*) las muestras fueron tomadas de la parte media de la fronde, mientras que en palmeras de hoja simple (*C.*

*barbadensis*, *M. flexuosa* y *S. mauritiiformis*) se tomó una sección de la parte media de la hoja. Todas las plantas tenían más de 4 años de edad.

Las preparaciones para observaciones al microscopio óptico consistieron en secciones transversales de folíolos de las especies de palmeras en estudio, montadas en agua:glicerina (1:1). Las variables determinadas fueron: ancho de la cutícula-epidermis abaxial, profundidad del mesófilo (distancia medida desde el estrato cutícula-epidermis hasta la hipodermis) y ancho del mesófilo (medido como la distancia interna entre la hipodermis adaxial y la hipodermis abaxial), mientras que la caracterización de los estomas y el cálculo de los índices y la densidad estomática fueron obtenidos en vistas frontales.

Las secciones transversales fueron obtenidas a mano alzada del tercio medio del folíolo, teñidas con una solución acuosa de azul de toluidina 5% (p:v), montadas sobre portaobjeto con una mezcla de agua: glicerina (1:1, v:v) y selladas con esmalte transparente para uñas (Valera 2005).

La vista frontal de ambas epidermis foliares fue obtenida a partir de segmentos de folíolos (2 cm<sup>2</sup>) que fueron transferidos a una solución de hipoclorito de sodio (70 % v:v) y calentados 80°C durante 2 a 4 h o hasta lograr la separación de las cutículas, lavados con agua destilada, teñidos con una solución acuosa de azul de toluidina 5% (p:v) y montados de igual manera que la descrita para las secciones transversales (Wilkinson 1979, Valera 2005).

Tanto el ancho de la cutícula-epidermis abaxial, profundidad y ancho del mesófilo, como la caracterización de los estomas fueron determinados en un campo de 400X con un microscopio óptico con cámara incorporada (Motic Image Plus 2.0 ML) y con el programa ImageJ 1.46 64-bit Windows.

El índice estomático se calculó a través de la fórmula sugerida por Wilkinson (1979):

$$IE = \frac{NE \times 100}{CE + NE}$$

Donde, NE es el número de estomas por campo de observación y CE el número de células epidérmicas típicas en el campo. La densidad estomática (DE) se obtuvo contando el número de estomas en un área de 0,0825 mm<sup>2</sup>, equivalente al diámetro del campo observado.

#### CUANTIFICACIÓN DE LOS GRUPOS DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS (EE) OBTENIDOS A PARTIR DE LAS HOJAS DE ESPECIES DE PALMERAS

Para determinar la concentración de los MS (alcaloides, flavonoides, fenoles, saponinas y aceites esenciales), los folíolos de cada una de las especies de palmeras en estudio fueron secados bajo sombra durante aproximadamente una

semana y posteriormente molidos en una licuadora Oster®. El polvo resultante fue macerado en 50 mL de etanol (96% v:v) y envasados en frascos ámbar para evitar la incidencia de luz sobre el macerado. Transcurridas 48 h, la mezcla fue filtrada a través de cuatro capas de gasa y transferido a un rotavapor BRINKMAM<sup>MR</sup> (Modelo RE111) para obtener el EE puro, el cual fue almacenado bajo refrigeración hasta la determinación de la concentración de los grupos de MS.

Para la determinación de la concentración de alcaloides, flavonoides y fenoles fueron adicionados 10 µL de EE de cada especie en evaluación sobre cromatofolios de sílicagel (Merk®, TLC60 F<sub>254</sub>) (6,5 x 2,5 cm) con la ayuda de una micro-pipeta. El volumen de EE fue distribuido en 2 gotas, colocadas a 1 cm de uno de los extremos de la placa de sílicagel. Posteriormente, los cromatofolios fueron tratados con diferentes solventes de acuerdo al metabolito secundario a determinar, colocados en una cámara cromatográfica y finalmente revelado (Tabla I). Para la determinación de las saponinas, 1mL del EE fue colocado en un vial con igual cantidad de agua destilada, se agitó por 1min y se dejó reposar por 20 min, la formación y permanencia de la espuma generada por la agitación, por el tiempo indicado, demostraba la presencia de este grupo de MS, finalmente se midió determinándose de esta forma la concentración (Marcano y Hasegawa 2002).

#### DETERMINACIÓN CUANTITATIVA

La cuantificación de los grupos de MS contenidos en los EE de *C. barbadensis*, *C. nucifera*, *M. flexuosa*, *R. oleracea*, *S. mauritiiformis*, *S. amara*, *S. coronata*, *S. romanzoffiana*, *S. sancona*, *S. schizophylla* y *S. stenopetala* se hizo siguiendo la metodología de Vásquez *et al.* (2008). Esta consistió en marcar el área ocupada por el metabolito secundario en el cromatofolio de sílica-gel. Posteriormente, fueron extraídas 3 secciones de área conocida (AC) con ayuda de un sacabocado, raspadas y pesadas en una balanza analítica (Ohaus Adventure N° AR2140) para determinar el peso (g) de cada muestra que contiene el metabolito (MS + sílica + solvente). De manera similar, la superficie restante del área recorrida por el MS, constituido por MS+ sílica+ solvente, fue raspado y denotado como área desconocida (AD). Adicionalmente, se preparó un número similar de discos de cromatofolios conteniendo sólo sílica + solvente, los cuales constituyeron el control. Estos discos también fueron raspados y pesados para obtener el área de control (ACt).

La concentración de metabolitos secundarios (mg mL<sup>-1</sup>) fue calculada mediante la fórmula:

$$\mu gdeMS / ml = \frac{\left[ \frac{AD * (AC - ACt)}{AC} \right] + (AC - ACt) * 1000}{10 \mu L} * 1000$$

Donde los 10µL representaron la cantidad de extracto que se agregó a cada cromatofolio.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos del estudio anatómico foliar fueron procesados mediante el programa estadístico Statistix versión 8 para Windows (Analytical Software 2003). Las variables que mostraron diferencias significativas fueron comparadas mediante prueba de medias de acuerdo a prueba de rango de Tukey ( $p < 0,001$ ).

**RESULTADOS**

DESARROLLO DE *RAOIELLA INDICA* EN EL LABORATORIO

A excepción de los discos de hoja de coco donde *R. indica* mostró sobrevivencia (huevo-adulto) de 87,7%, esta especie no logró desarrollarse sobre ninguna de los discos de hoja de las especies de Arecaceae evaluadas, puesto que menos del 25 % de las hembras madres lograron sobrevivir hasta 4 días sobre *R. oleracea*, *S. mauritiiformis*, *S. schizophylla*, *S. romanzoffiana*, *S. amara*, *M. flexuosa*, *C. barbadensis* y *S. coronata*, por lo que la oviposición fue casi nula. Sólo en *S. stenopetala* se observó que el 60% de las hembras madres logró sobrevivir y oviponer, sin embargo el total de las larvas emergidas no vivió más de dos días.

ANCHO DEL ESTRATO CUTÍCULA-EPIDERMIS ABAXIAL, PROFUNDIDAD Y ANCHO DEL MESÓFILO COMO POSIBLES BARRERAS PARA LA ALIMENTACIÓN DE *RAOIELLA INDICA*, EN ESPECIES ORNAMENTALES DE ARECACEAE

Se observaron diferencias en cuanto al ancho de la cutícula + epidermis abaxial ( $p < 0,001$ ,  $F = 15.8$ ;  $gl = 98$ ), ancho del mesófilo ( $p < 0,001$ ;  $F = 735$ ;  $gl = 98$ ) y profundidad del mesófilo ( $p < 0,001$ ;  $F = 28.4$ ;  $gl = 98$ ) en las especies de Arecaceae estudiadas (Tabla II). Con relación al ancho del estrato cutícula-epidermis, los mayores valores fueron observados en *S. mauritiiformis*, *C. nucifera* y *S.*

*stenopetala*, mientras que en *R. oleracea*, *S. sancona*, *S. schizophylla*, *S. romanzoffiana*, *C. barbadensis*, *S. amara* y *S. coronata* mostraron valores intermedios que oscilaron entre 3,9 y 4,9  $\mu m$ . Los valores menores fueron observados en *S. coronata* y *M. flexuosa*. Con relación a la profundidad del mesófilo, los mayores valores fueron observados en *S. schizophylla*, *C. nucifera*, *M. flexuosa* y *R. oleracea*, debido a que presentaron hipodermis. *Syagrus amara* y *S. mauritiiformis* mostraron valores intermedios de 30,0 y 28,8  $\mu m$  respectivamente, mientras que en el resto de las especies estudiadas ésta varió entre 13,1 hasta 24,1  $\mu m$ .

DENSIDAD, ÍNDICE Y MORFOLOGÍA ESTOMÁTICA EN ESPECIES ORNAMENTALES DE ARECACEAE Y SU POSIBLE RELACIÓN CON LA ALIMENTACIÓN DE *RAOIELLA INDICA*

Se observó una amplia variación, tanto para el índice como para la densidad estomática entre las especies de Arecaceae evaluadas (Tabla III). En general, ambas variables fueron superiores en *S. mauritiiformis* con promedios de 15,75 y 426,94 estomas/ $mm^2$ , respectivamente. Las especies *S. coronata* y *S. schizophylla* mostraron los menores valores en el índice estomático, mientras que los menores valores en la densidad de estomas fue observada en *R. oleracea*, *S. coronata* y *S. sancona*.

Se detectó variación en la morfología de los estomas en las especies estudiadas, encontrándose que sólo en *C. nucifera* estos sobresalían de la superficie epidérmica, tal como fue evidenciado en la sección transversal (Fig. 1a); mientras que en *S. coronata* y *S. romanzoffiana* se observó un ligero levantamiento de las células estomáticas (Fig. 1b-c); contrariamente, en *C. barbadensis*, *M. flexuosa*, *S. mauritiiformis*, *S. amara*, *S. sancona*, *S. schizophylla* y *S. stenopetala* estas estructuras se disponían al nivel de las células epidérmicas (Fig. 1d-j) y sólo en *R. oleracea* se presentaron hundidos (Fig. 1k).

TABLA I. Solventes y métodos de revelados utilizados en la determinación de alcaloides, flavonoides y fenoles en el extracto etanólico de especies de Arecaceae.

TABLE I. Solvents and revealing methods used for alkaloids, flavonoids and phenols qualitative determination from ethanolic extract in Arecaceae species.

METABOLITOS SECUNDARIOS	ELUYENTES UTILIZADOS	REVELADO
Alcaloides	N-butanol: ácido acético: agua (9:2:1, v:v:v)	Lámpara de luz ultravioleta. Una coloración anaranjada indicó presencia.
Flavonoides	Benceno:ácido acético:agua (6:3,5:1, v:v:v)	Lámpara de luz ultravioleta (UV). Una coloración fluorescente blanca indicó presencia
Fenoles	Agua y ácido acético (9:1, v:v)	Cloruro férrico al 1%. Una coloración marrón-anaranjada fue indicativo de presencia

UV: 365nm. Fuente: Marcano & Hasegawa (2002).

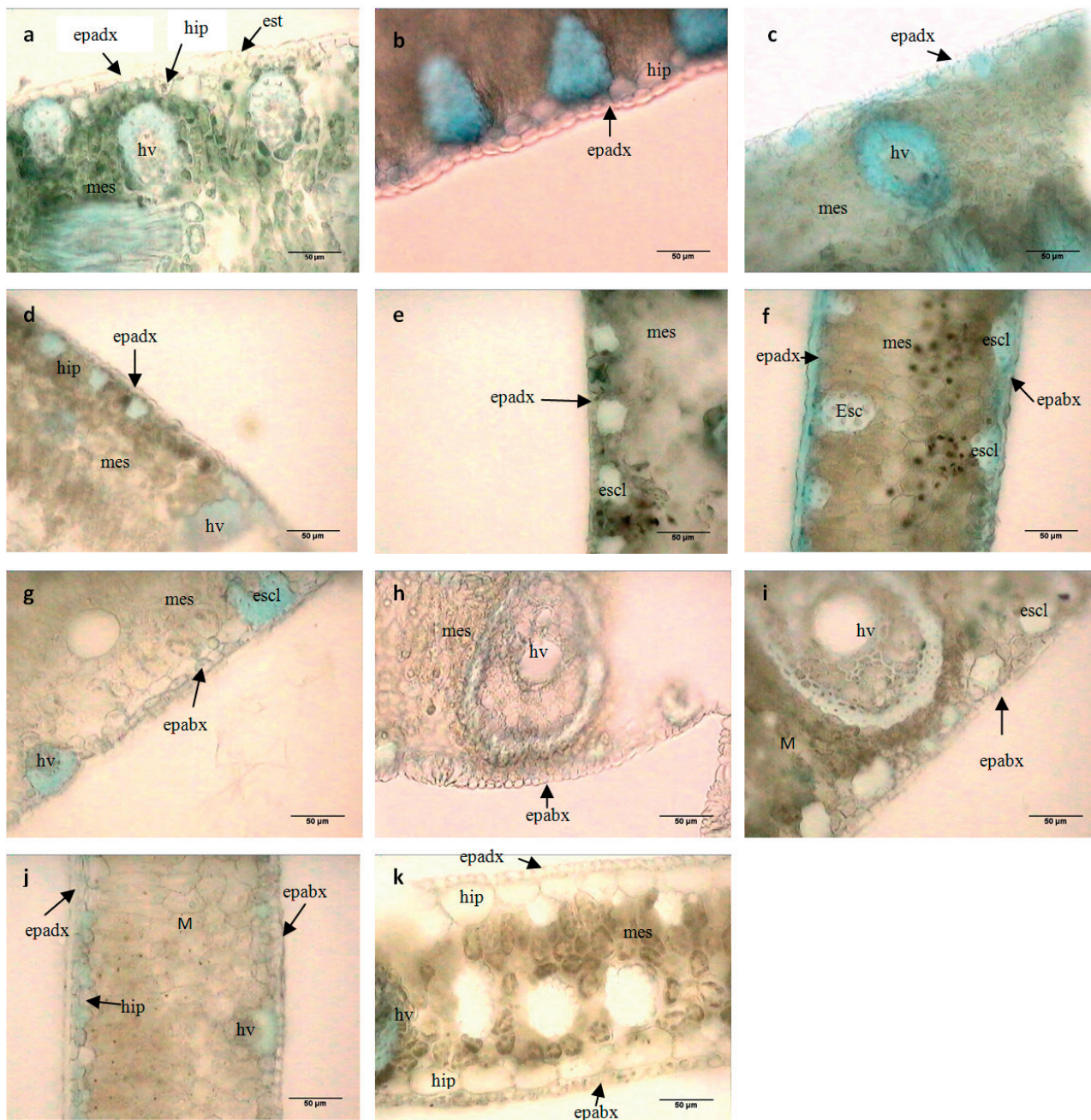


FIGURA 1. Cortes transversales de *C. nucifera* (a), *S. coronata* (b), *S. romanzoffiana* (c), *C. barbadensis* (d), *M. flexuosa* (e), *S. mauritiiformis* (f), *S. amara* (g), *S. sancona* (h), *S. schizophylla* (i), *S. stenopetala* (j) y *R. oleraceae* (k) mostrando epidermis adaxial con cutícula (epadx), hipodermis (hip), mesófilo (mes), haz vascular (hv); estoma (est), esclerénquima (escl), epidermis abaxial con cutícula (epabx).

FIGURE 1. Cross sections from *C. nucifera* (a), *S. coronata* (b), *S. romanzoffiana* (c), *C. barbadensis* (d), *M. flexuosa* (e), *S. mauritiiformis* (f), *S. amara* (g), *S. sancona* (h), *S. schizophylla* (i), *S. stenopetala* (j) y *R. oleraceae* (k) showing adaxial epidermis and cuticle (epadx), hipodermis (hip), mesophyll (mes), vascular bundle (hv); stoma (est), sclerenchyma (escl), abaxial epidermis and cuticle (epabx).

TABLA II. Características anatómicas de hojas en varias especies de Arecaceae.  
TABLE II. Leaf anatomy characteristics in various Arecaceae species.

ESPECIE	GROSOR DE LA CUTÍCULA+EPIDERMIS ABAXIAL (µm)	PROFUNDIDAD DEL MESÓFILO (µm)	GROSOR DEL MESÓFILO (µm)
<i>Cocos nucifera</i>	5,9±1,54 <sup>ab</sup>	35,1±4,78 <sup>ab</sup>	243,6±2,45 <sup>d</sup>
<i>Coccothrinax barbadensis</i>	3,9±0,60 <sup>cde</sup>	13,1±2,09 <sup>e</sup>	218,0±2,60 <sup>f</sup>
<i>Mauritia flexuosa</i>	3,1±0,33 <sup>c</sup>	36,9±6,82 <sup>ab</sup>	319,3±2,55 <sup>a</sup>
<i>Roystonea oleracea</i>	4,9±0,60 <sup>bcd</sup>	35,1±7,61 <sup>ab</sup>	180,3±5,96 <sup>h</sup>
<i>Sabal mauritiiformis</i>	6,6±0,88 <sup>a</sup>	28,8±3,93 <sup>bc</sup>	181,0±8,98 <sup>sh</sup>
<i>Syagrus sancona</i>	4,9±0,78 <sup>bcd</sup>	16,6±2,13 <sup>de</sup>	189,8±6,53 <sup>g</sup>
<i>Syagrus amara</i>	3,9±0,60 <sup>cde</sup>	30,0±3,20 <sup>bc</sup>	229,8±5,31 <sup>e</sup>
<i>Syagrus coronata</i>	3,7±0,5 <sup>de</sup>	23,7±4,72 <sup>cd</sup>	296,4±2,56 <sup>b</sup>
<i>Syagrus romanzoffiana</i>	4,3±0,71 <sup>cde</sup>	22,6±2,07 <sup>cd</sup>	254,7±5,43 <sup>c</sup>
<i>Syagrus schizophylla</i>	4,4±0,53 <sup>cde</sup>	40,8±8,63 <sup>a</sup>	240,6±2,88 <sup>d</sup>
<i>Syagrus stenopetala</i>	5,2±0,67 <sup>abc</sup>	24,1±1,83 <sup>cd</sup>	185,2±6,67 <sup>sh</sup>

Valores seguidos de la misma letra en las columnas no mostraron diferencias estadísticas entre especies de plantas de acuerdo a Prueba de Tukey (p<0,001). / Values followed by the same letter did not show significance differences between plant species according to Tukey test (p<0.001).

TABLA III. Índice estomático y densidad estomática de varias especies de Arecaceae.  
TABLE III. Stomatic index and density in various Arecaceae species.

ESPECIE	ÍNDICE ESTOMÁTICO	DENSIDAD ESTOMÁTICA (N° de estomas/mm <sup>2</sup> )
<i>Cocos nucifera</i>	9,01±0,4997 <sup>def</sup>	177,78±30,904 <sup>cde</sup>
<i>Coccothrinax barbadensis</i>	11,51±0,4997 <sup>bcd</sup>	282,83±30,302 <sup>b</sup>
<i>Mauritia flexuosa</i>	12,15±0,4740 <sup>bc</sup>	245,12±31,943 <sup>bc</sup>
<i>Roystonea oleracea</i>	9,57±0,4997 <sup>cde</sup>	122,56±22,222 <sup>e</sup>
<i>Sabal mauritiiformis</i>	15,75±0,4997 <sup>a</sup>	426,94±63,208 <sup>a</sup>
<i>Syagrus sancona</i>	8,54±0,4997 <sup>ef</sup>	127,94±14,983 <sup>c</sup>
<i>Syagrus amara</i>	10,80±0,4997 <sup>cde</sup>	175,09±21,945 <sup>de</sup>
<i>Syagrus coronata</i>	8,40±0,4997 <sup>ef</sup>	140,07±23,560 <sup>e</sup>
<i>Syagrus romanzoffiana</i>	13,53±0,4997 <sup>ab</sup>	289,56±34,522 <sup>b</sup>
<i>Syagrus schizophylla</i>	6,50±0,4997 <sup>f</sup>	203,37±33,621 <sup>cd</sup>
<i>Syagrus stenopetala</i>	9,87±0,4997 <sup>cde</sup>	149,49±27,774 <sup>de</sup>

Valores seguidos de la misma letra en las columnas no mostraron diferencias estadísticas entre especies de plantas de acuerdo a Prueba de Tukey (p<0,001). / Values followed by the same letter did not show significance differences between plant species according to Tukey test (p<0.001).

**METABOLITOS SECUNDARIOS**

El análisis cualitativo mostró que todas las especies de Arecaceae evaluadas presentaron alcaloides, flavonoides y aceites esenciales (Tabla IV). Con relación a la presencia de saponinas, sólo se evidenció en *C. nucifera*, *M. flexuosa*, *S. mauritiiformis* y *S. sancona*.

De acuerdo con el análisis cuantitativo, las mayores concentraciones de alcaloides fueron encontradas en *S. mauritiiformis*, *S. stenopetala*, *C. barbadensis* y *M. flexuosa* con valores de 265,26; 194,12; 178,24 y 152, 40 µg/ml respectivamente; mientras que en *S. sancona*, *S. schizophylla* y *S. amara* fueron 47,78; 72,41 y 77,38 µg/ml,

respectivamente (Tabla IV). Con relación al contenido de flavonoides, *S. mauritiiformis*, *S. coronata*, *R. oleracea* y *S. romanzoffiana* mostraron los valores más altos 355,51; 285,71; 234,83 y 251,09 µg/ml respectivamente, mientras que la menor concentración fue observada en *M. flexuosa* con 53,93 µg/ml, lo cual representa una variación de 4,7 y 6,6 veces, con relación a *S. romanzoffiana* y *S. mauritiiformis*, respectivamente. Por último, la menor cantidad de fenoles fue encontrada en hojas de *S. coronata* (38,30 µg/ml), seguida de *S. schizophylla* (38,89 µg/ml) y *C. nucifera* (45,68 µg/ml), mientras que en hojas de *M. flexuosa* y *S. amara* no se detectó su presencia.

TABLA IV. Composición química de la hoja en varias especies de Arecaceae.

TABLE IV. Leaf chemistry in various Arecaceae species.

ESPECIE	CONCENTRACIÓN (µg/ml)			ALTURA (mm)	PRESENCIA (+/-)
	ALCALOIDES	FLAVONOIDES	FENOLES	SAPONINAS	ACEITES ESENCIALES
<i>Coccothrinax barbadensis</i>	178,24	104,47	132,86	-	+
<i>Cocos nucifera</i>	97,06	138,67	45,68	+(1,2)	+
<i>Mauritia flexuosa</i>	152,40	53,93	0,0	+(6,6)	+
<i>Roystonea oleracea</i>	142,06	234,83	75,44	-	+
<i>Sabal mauritiiformis</i>	265,26	355,51	137,14	+(2,2)	+
<i>Syagrus amara</i>	77,38	171,36	0,0	-	+
<i>Syagrus coronata</i>	90,29	285,71	38,30	-	+
<i>Syagrus romanzoffiana</i>	117,07	251,09	62,57	-	+
<i>Syagrus sancona</i>	47,78	200,28	88,45	+(2,1)	+
<i>Syagrus schizophylla</i>	72,41	177,06	38,89	-	+
<i>Syagrus stenopetala</i>	194,12	188,63	57,45	-	+

**DISCUSIÓN**

La epidermis e hipodermis forman capas íntimamente unidas entre sí de 3,1 a 6,6 µm de espesor, por lo que se sugieren como estructuras de protección y defensa en especies de Arecaceae (Horn *et al.* 2009, Reina-Pinto & Yephremov 2009). Sin embargo, éstas no parecen representar una barrera para la alimentación de *Raoiella indica*, puesto que esta especie de ácaro se desarrolla y reproduce con éxito sobre los folíolos de *C. nucifera*, que presenta el mesófilo a una profundidad comparable al de otras especies de Arecaceae, tales como *M. flexuosa*, *R. oleracea* y *S. schizophylla*, las cuales no han logrado ser explotadas como hospederas por la plaga. Los resultados parecen sustentar la hipótesis de Beard *et al.* (2012), quienes postularon que las especies de *Raoiella* introducen el infra-capítulo a través de la abertura estomática, para alimentarse de las células subyacentes del mesófilo. Por esto la disposición de los estomas sobre la superficie foliar pudiera tener mayor influencia en la

capacidad de alimentación de *R. indica* sobre la planta hospedera.

Ochoa *et al.* (2011) demostraron que al momento de la alimentación, las especies de *Raoiella* introducen sus estiletos a través tanto de las células oclusivas del complejo estomático como de la abertura estomática, a diferencia de otras especies de la superfamilia Tetranychoidae, las cuales deben penetrar las células epidérmicas. En tal sentido, la forma, el número y disposición de los estomas pudieran afectar la capacidad de alimentación de estos ácaros. Sin embargo, basados en los valores de índice y densidad estomática observados en *S. mauritiiformis*, *S. romanzoffiana*, *M. flexuosa* y *C. barbadensis*, los cuales mostraron ser superiores a los observados en hojas de *C. nucifera*, especie sobre la cual *R. indica* ha mostrado mayores aptitudes para desarrollarse y reproducirse; se infiere que estas variables no afectarían directamente los parámetros biológicos de la plaga, mientras que la disposición sí.

Hasta el presente, la información sobre el contenido

de los grupos de metabolitos secundarios en especies de Arecaceae es escasa, principalmente de las consideradas en el presente estudio. Estudios previos realizados por Rajeev *et al.* (2011) han reportado altas concentraciones de taninos y flavonoides en extractos del endocarpo de *Cocos nucifera*, los cuales también mostraron tener efecto negativo sobre bacterias y hongos. Basados en estos resultados y en el hecho que no fue posible obtener crías de *R. indica* sobre estas especies, bajo condiciones de laboratorio (Vásquez 2012), se sugirió que la presencia de estos compuestos podrían explicar parcialmente por qué las poblaciones de *R. indica* son bajas o no existen en las especies de Arecaceae estudiadas. Carrillo *et al.* (2012) observaron que las densidades poblacionales de *R. indica* sobre *Syagrus schizophylla*, *Syagrus romanzoffiana*, *Roystonea boriquena*, *Roystonea regia*, *Roystonea lenis*, *Coccothrinax argentata* y *Coccothrinax miraguama* eran de muy bajas a inexistentes. Probablemente, características de defensa tales como la existencia de barreras morfológicas, así como la producción de sustancias disuasivas de alimentación y/o oviposición (fenoles, terpenoides, etc.) (Wittstock & Gershenzon 2002, Kroymann 2011) explican por qué algunas especies de palmeras de la región Neotropical sean inadecuadas para el desarrollo y reproducción de esta plaga. Por esto se sugieren estudios más detallados, de modo de establecer una relación palmeras-acaro rojo más precisa con el fin de establecer su potencial como plaga en las especies estudiadas.

El ancho del estrato cutícula-epidermis y la profundidad del mesófilo en las especies evaluadas no parecen funcionar como barreras morfológicas para la alimentación de *R. indica*. Por otra parte, aunque el índice y densidad estomática posiblemente no juegue un rol importante en la alimentación del ácaro, la introducción del infracapítulo de *R. indica* en el mesófilo pudiera ser facilitada por la disposición de las células oclusivas en la superficie epidérmica de la lámina foliar. En tal sentido, se sugiere realizar estudios más detallados sobre la constitución anatómica de los estomas de las especies de Arecaceae, incluidas en esta investigación.

Probablemente las concentraciones de alcaloides y fenoles encontradas en las láminas foliares de las plantas de *Cocos nucifera* favorecieron la aceptación de éstas por parte de *R. indica* para alimentarse y reproducirse. En futuros estudios se debe incluir la identificación química específica de los diferentes grupos de metabolitos secundarios presentes en Arecaceae de importancia económica, para así determinar su posible efecto sobre los parámetros biológicos de la plaga.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores expresamos sincero agradecimiento al Dr. Norberto Maciel y al Sr. Amabilis Mendoza (Postgrado de Horticultura, Universidad Centroccidental Lisandro

Alvarado) por facilitar e identificar las especies de palmeras usadas en este estudio.

## REFERENCIAS

- ANALYTICAL SOFTWARE. 2003. Statistix 8 for Windows. Analytical Software. Tallahassee, FL.
- BAILEY, J., R. FURR, B. HANNY & W. MEREDITH. 1978. Field populations of two-spotted spider mites on sixteen genotypes at Stoneville. *Journal of Economic Entomology* 71: 911-912.
- BEARD, J.J., R. OCHOA, G.R. BAUCHAN, W.C. WELBOURN, C. POOLEY & A.P.G. DOWLING. 2012. External mouthpart morphology in the Tenuipalpidae (Tetranychoida): *Raoiella* a case study. *Experimental and Applied Acarology* 57: 227-255.
- CARRILLO, D., D. AMALIN, F. HOSEIN, A. RODA, R.E. DUNCAN & J.E. PEÑA. 2012. Host plant range of *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) in areas of invasion of the new world. *Experimental and Applied Acarology* 57: 271-289.
- COCCO, A. & M.A. HOY. 2009. Feeding, reproduction, and development of the red palm mite (Acari: Tenuipalpidae) on selected palms and banana cultivars in quarantine. *Florida Entomologist* 92 (2): 276-291.
- CROOKER, A. 1985. Embryonic and juvenile development. In: W. Helle & M. Sabelis (eds.), *Spider Mites: Their Biology, Natural Enemies and Control*. Vol. 1A, pp. 149-163. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, The Netherlands.
- DALIN, P., J. ÄGREN, C. BJÖRKMAN, P. HUTTUNEN & K. KÄRKKÄINEN. 2008. Leaf trichome formation and plant resistance to herbivory. In: A. Schaller (ed.), *Induced plant resistance to herbivory*, pp. 89-105. Springer, Stuttgart, Germany.
- DE PONTI, O. 1985. Host plant resistance and its manipulation through plant breeding. In: W. Helle & M. Sabelis (eds.), *Spider mites: their biology, natural enemies and control*, pp. 395-403. Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, The Netherlands.
- DENT, D. 2000. *Insect Pest Management*. Segunda Edición. CABI Biosciences. Ascot, 415 pp.
- DOWLING, A., R. OCHOA, J. BEARD, W. C. WELBOURN & E.A. UECKERMANN. 2012. Phylogenetic investigation of the genus *Raoiella* (Prostigmata: Tenuipalpidae): diversity, distribution, and world invasion. *Experimental and Applied Acarology* 57(3-4): 257-269.
- ETIENNE, J. & C.H.W. FLECHTMANN. 2006. First record of *Raoiella indica* (Hirst, 1924) (Acari: Tenuipalpidae) in Guadeloupe and Saint Martin, West Indies. *International Journal of Acarology* 32: 331-332.
- FLECHTMANN, C. & J. ETIENNE. 2005. Un nouvel acarien ravageur des palmiers: En Martinique, premier signalement de *Raoiella indica* pour les Caraïbes. *Phytoma* 548: 10-11.
- FLECHTMANN, C.H.W & J. ETIENNE. 2004. The red palm mite, *Raoiella indica* Hirst, a threat to palms in the Americas (Acari: Prostigmata: Tenuipalpidae). *Systematic and Applied Acarology* 9: 109-110.
- HORN, W., J. FISHER, P. B. TOMLINSON, C. E. LEWIS & K. LAUBENGAYER. 2009. Evolution of lamina anatomy in the palm family (Arecaceae). *American Journal of Botany* 96: 1462-1486.



- KROYMANN, J. 2011. Natural diversity and adaptation in plant secondary metabolism. *Current Opinion in Plant Biology* 14(3): 246-251.
- MARCANO, D. & M. HASEGAWA. 2002. Fitoquímica orgánica. UCV-CDCHT, Caracas. 588 pp.
- MÜLLER, C. 2008. Resistance at the plant cuticle. In: A. Schaller (ed.), *Induced plant resistance to herbivory*, pp. 107-129. Springer, Stuttgart, Germany.
- OCHOA, R., J. BEARD, G. BAUCHAN, E. KANE, A. DOWLING & E. ERBE. 2011. Herbivore exploits chink in armor of host. *American Entomologist* 57(1): 26-29.
- RAJEEV, K., N. JAISWAL, G. VARADARAJ BHAT & H. JAGANI. 2011. Antioxidant and antimicrobial activities of *Cocos nucifera* Linn. (Arecaceae) endocarp extracts. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences* 1(4): 354-361.
- REINA-PINTO, J. & A. YEPHREMOV. 2009. Surface lipids and plant defenses. *Plant Physiology and Biochemistry* 47: 540-549.
- RIVERO, E. & C. VÁSQUEZ 2009. Biología e tabela de vida de *Tetranychus desertorum* (Acari: Tetranychidae) sobre folhas de feijão (*Phaseolus vulgaris*). *Zoologia* 26(1): 38-42.
- RODA, A., A. DOWLING, C. WELBOURN, J. PEÑA, J. RODRIGUES, M. HOY, R. OCHOA, R. DUNCAN & W. CHI. 2008. Red palm mite situation in the Caribbean and Florida. *Proceedings of the Caribbean Food Crops Society* 44(1): 80-87.
- RODA A., G. NACHMA, F. HOSEIN, J.C.V. RODRIGUES & J.E. PEÑA. 2012. Spatial distributions of the red palm mite, *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) on coconut and their implications for development of efficient sampling plants. *Experimental and Applied Acarology* 57, 291-308.
- RODRIGUES, J.C.V., R. OCHOA & E. KANE. 2007. First report of *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) and its damage to coconut palms in Puerto Rico and Culebra Island. *International Journal of Acarology* 33: 3-5.
- RODRÍGUEZ, D. & M.E. SANABRIA. 2005. Efecto del extracto de tres plantas silvestres sobre la rizoctoniosis, la mancha sureña de maíz y los patógenos que las causan. *Interciencia* 30(12): 739-744.
- THEIS, N. & M. LERDAU. 2003. The evolution of function in plant secondary metabolites. *International Journal of Plant Science* 164(3): 93-102.
- VALERA, R. 2005. Trasplante y crecimiento en vivero de las palmeras *Coccothrinax barbadensis*, *Roystonea oleracea* y *Sabal mauritiformis* bajo diferentes irradiancias. Tesis *Magister Scientiarum*. UCLA. Barquisimeto, Venezuela. 168 pp.
- VÁSQUEZ, C. 2012. Bioecología do acaro vermelho das palmeiras, *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) na Venezuela. Tesis Doctoral. Universidade de São Paulo. Piracicaba, Brasil. 87 pp.
- VÁSQUEZ, C., O. APONTE, J. MORALES, M.E. SANABRIA & G. GARCÍA. 2008. Biological studies of *Oligonychus punicae* (Acari: Tetranychidae) on grapevine cultivars. *Experimental and Applied Acarology* 45: 59-69.
- WILKINSON, H. 1979. The plant surface (mainly leaf). In: C.R. Metcalfe & L. Chalk. (eds.), *Anatomy of dicotyledons*, Vol. 1, Second edition, pp. 97-165. Oxford Clarendon Press. London.
- WINK, M. 1998. Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theoretical and Applied Genetics* 75(2): 225-233.
- WITTSTOCK, U. & J. GERSHENZON. 2002. Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens. *Current Opinion in Plant Biology* 5(4): 300-307.

Recibido: 17.06.14  
Aceptado: 12.05.15