

DESCRIPCIÓN DEL HUEVO Y ESTADIOS LARVARIOS DE *ELPHINSTONIA BAZAE* (FABIANO, 1993) (LEPIDOPTERA: PIERIDAE)

Miguel Ginés Muñoz Sariot

licenidomania@hotmail.com

Resumen: Por primera vez se describen e ilustran con detalle el huevo y estadios larvarios de *Elphinstonia bazae* (Fabiano, 1993). El huevo es alargado, con forma de barril, con 17 costillas longitudinales y estrías transversales. La especie presenta cinco estadios larvarios. En el desarrollo larvario se observan grupos de sedas largas, unas negras con punta ahorquillada, que son las únicas observadas en el primer estadio. En el resto de estadios este tipo de sedas se alternan con otras sedas transparentes de distinta longitud y de punta dentada. Todas las sedas son glandulares, segregando por la punta líquido, lo que sugiere que juegan un papel defensivo.

Palabras clave: Lepidoptera, Pieridae, *Elphinstonia bazae*, huevo, larva.

Description of the ova and larval stages of *Elphinstonia bazae* (Fabiano, 1993) (Lepidoptera: Pieridae)

Abstract: For the first time the ova and larval stages of *Elphinstonia bazae* (Fabiano, 1993) are described and illustrated in detail. The egg is elongated, barrel shaped, with 17 longitudinal ribs and transverse grooves. The species has five larval stages. Throughout the larval development we found groups of long setae, some black with forked tips and only observed in the first stage. In other stages such setae alternate with other transparent setae of various lengths. All setae have a glandular tip that oozes a liquid substance, which suggests they play a defensive role.

Key words: Lepidoptera, Pieridae, *Elphinstonia bazae*, egg, larva.

Introducción

Elphinstonia bazae (Fabiano, 1993), fue inicialmente descrita como subespecie de *Elphinstonia charlonia*. En trabajos posteriores (Olivares *et al.*, 1996), este taxón fue incluido dentro del género *Euchloe* (Hübner, 1891) y se propuso su elevación a rango específico en base a las diferencias morfológicas del adulto y estadios preimaginales. Otros autores, o bien la consideran como forma de *E. charlonia* dentro de su rango de variación (Tolman *et al.*, 1997), o bien la consideran *a priori* poblaciones de *E. charlonia* (García Barros *et al.*, 2004). Estudios moleculares más recientes (Back *et al.*, 2008), no sólo confirman el status de "bona species" de la especie, sino que sugieren la necesidad de revisar el género *Euchloe* proponiendo la creación de un nuevo género -*Iberochloe*- en el que se incluirían todas las especies ibéricas, a excepción de *bazae* que se mantendría en el género antiguo, *Elphinstonia* (Klots, 1930), postura que compartiremos en el presente trabajo frente a otras más conservadoras (García Barros *et al.*, 2013).

Elphinstonia bazae es un endemismo ibérico y una de las especies de *Papilionoidea* más raras de Europa. De ella se conocen dos poblaciones de distribución local y de reducida extensión, confinadas a dos áreas concretas: la primera, de la subespecie tiponominal, localizada en la comarca granadina de la Hoya de Baza, términos municipales Benamaurel y Galera; la segunda de la subespecie *E. bazae iberiae* (Back *et al.*, 2005) de menor extensión y bastante alejada, confinada en la comarca de Los Monegros, entre las provincias de Huesca (Fraga y Candanos) y Zaragoza (Caspé). *E. bazae* es un lepidóptero univoltino con periodo de vuelo de finales de febrero a primeros de abril, constatándose mediante cría en cautividad, tanto por nosotros como por los autores referidos (Olivares *et al.*, 1996), de la existencia de una generación parcial entre los finales de abril y el mes de mayo. Parece ser, al menos por nuestras observaciones personales durante años,

que el número de individuos y el momento de su eclosión viene inducido, en parte, por la presencia de precipitaciones como sucede con *Elphinstonia charlonia* en las Islas Canarias. La especie hiberna como pupa pudiendo mantenerse algunos ejemplares en este estadio al menos hasta dos años.

Elphinstonia bazae es un lepidóptero de ecología especializada que coloniza biotopos áridos, secos con fuerte insolación, en altitudes comprendidas entre los 700 y 1000 m y con asociaciones vegetales *Santolino-Gypsophiletum struthium* Loefl (Fabiano, 1993; Olivares *et al.*, 1996) en la Hoya de Baza; y *Rhamno-Cocciferetum pistacietosum* Br.-Bl. Y Bolòs (Pérez De Gregorio *et al.*, 1992) en Los Monegros. Estas marcadas preferencias ambientales parecen ser el condicionante principal de su restringida distribución y no por sus plantas nutricias como por ejemplo *Eruca vesicaria*, especie botánica común y extendida en el territorio peninsular. Experimentos de cría llevados a cabo por nosotros desvelan que la mortandad de los estadios larvarios e incluso en pupas es alta si no se simulan las condiciones naturales (planta nutricia cultivada e insolación).

Respecto a la descripción de los estadios preimaginales no tenemos constancia, para nuestra sorpresa, de ningún trabajo que describa e ilustre con detalle todo el ciclo biológico de *E. bazae*, pese haberse realizado en fechas recientes un importante plan de recuperación de la especie (Munguira *et al.*, 2015). En los primeros datos recabados (Olivares *et al.*, 1996) de la oruga sólo se aportan de manera somera e imprecisa, en escasas líneas formato columna, sus caracteres principales: longitud de los tres últimos estadios; coloración de la cutícula y que la misma está provista de "abundante pilosidad blanca o a veces negra". No se realiza en absoluto estudio de quetotaxia larval ni medidas de las cápsulas cefálicas. En cuanto a la crisálida es descrita con más detalle y la variación

de cada generación. Las ilustraciones que apoyan este trabajo, son escasas, estando realizadas con dibujos (crisálidas) y con fotografías (costado de la larva en 5° estadio y de la pupa). En las fotografías no se aprecian en absoluto lo que se describe en el texto, por deficiencias técnicas en su ejecución. En otro trabajo posterior (Back *et al.*, 2005) aparecen otras fotografías sensiblemente mejoradas. En García Barros *et al.* (2013) y Munguira *et al.* (2015) se refiere a estos trabajos afirmando "generosamente" que "los estadios inmaduros han sido descritos y fotografiados por Olivares y Jiménez (1996) y Back *et al.* (2005)".

Con el presente trabajo se aportan fotografías de todos los estadios preimaginales de *E. bazae*, huevo y larva, ejecutadas a grandes aumentos y en alta resolución, rivalizando incluso con las imágenes captadas con microscopio electrónico de barrido (SEM). La prueba irrefutable, como veremos, es la detección en este lepidóptero de sedas glandulares, específicas en muchos géneros de *Pieridae* (datos inéditos) que ya han sido descritas en escasos trabajos (Smedley *et al.*, 2002).

Material y métodos

El 23/3/14 se colectaron una veintena de huevos de *E. bazae bazae* en la Hoya de Baza (Granada) con el seguimiento de una hembra en el momento de la puesta. Dado el escaso número de huevos conseguidos y para asegurar la crianza completa de este lepidóptero se cultivó *Eruca vesicaria* en macetas, a donde se trasladaron las orugas nada más nacer. Para evitar bajas por predación de enemigos naturales (arañas, hormigas...) las macetas se introdujeron en cajas especiales de malla fina y colocadas en una exposición resguardada, seca y soleada, siempre tratando de reproducir las condiciones naturales que las orugas requieren pues, de lo contrario, perecen con mucha facilidad, sobre todo en el primer estadio. El número de pupas obtenidas en la crianza fueron 12.

Las fotografías fueron obtenidas con un equipo fotográfico macro y de microfotografía Nikon D800, ópticas micro-nikkor 105 mm, f2,8, macro nikkor 35 mm, Mitutoyo 10x, lente de tubo MT1, fuellé PB6 Nikon, flashes en modo manual. Para aumentar la profundidad de campo a grandes aumentos, sin pérdida de resolución de las fotografías, se hicieron múltiples tomas para posteriormente apilarlas con la aplicación Zerene Stacker. El posicionamiento de muestras a 10x y apilados de fotografías se hicieron con las etapas lineares Newport 460-XYZ con micrómetros diferenciales de la misma marca modelo DM-13 que permiten realizar pasos de hasta 0,5 micras. Estos instrumentos, por tanto, permiten hacer mediciones exactas de las muestras, esto es, enfocando con la cámara de unos puntos a otros y registrar la lectura del micrómetro diferencial, o bien multiplicar el número de fotografías realizadas por los pasos de micra seleccionados en cada sesión fotográfica.

El número de ejemplares medidos 1, excepto la larva en 5° estadio (n=5) que es donde hay apreciable variación en tamaño.

La nomenclatura empleada para la descripción de la quetotaxia larval de acuerdo con Stehr (1987).

Resultados

Huevo

Tiene forma de barril parecida a muchas especies de *Pieridae*. Recién puesto es de color blanco (Fig. 1) y a partir del día

siguiente se torna de color anaranjado y posteriormente a rojizo. Mide 0,812 μm de alto y en su parte más ancha 0,447 μm . Se observan 17 costillas longitudinales desde la base del huevo pero sólo, 9-10 de ellas (según ejemplares) llegan hasta la roseta micropilar, por la fusión asimétrica de varios pares justo antes de esta zona. Entre cada par de costillas encontramos las estrías transversales, curvadas hacia dentro, en número variable 26-29 (Fig. 2). La roseta micropilar está compuesta de 3-4 hileras de cedillas, hexagonales y pentagonales de forma algo irregular y disposición.

Larva 1° estadio

Al nacer tiene una longitud de 1,4 mm y es de forma cilíndrica y de color amarillo dorado salpicado con un tenue moteado marrón (Fig. 3). Los segmentos con ligeros pliegues dorso laterales y su cutícula es lisa, con excepción de la zona lateral justo por debajo de los espiráculos donde se aprecian multitud de microsedas de 0,6 μm de longitud visibles por su calaza oscura y pronunciada (Fig. 4).

La cabeza mide 0,37mm y es de color negra brillante con superficie rugosa (Fig. 5). En cada epicraneio se observan al menos 12 sedas cortas y seis estegmata negros. En el frente 2 pares de sedas y uno de ellas son cortas y romas de las que sólo se aprecia su base. En el clipeo hay 1 par de sedas. En cada antena hay tres sedas una larga.

Las patas torácicas son negras y con algunas sedas entre cada articulación.

La coloración de los segmentos es de fondo es amarillónaranja y está salpicada, en toda su extensión, de manchas pardo rojizas tenues.

Quetotaxia corporal

Todas las sedas son negras, con calaza de color marrón oscura. Su longitud es de 15 μm . Su longitud es notable y regular en todos los grupos. Las puntas de las sedas tiene una forma ahorquillada y por ella la oruga segrega una sustancia líquida transparente (Fig. 4).

En T1 con sedas D1, D2, XD1 en zona de placa protorácica no esclerotizada y delimitada por dos manchas irregulares. SD1 y SD2 casi fusionando sus calazas. SD2 es mucho más corta que el resto de grupos de sedas. L1 a la altura del espiráculo. SV1 y SV2 cortas.

En T2 y T3 con sedas D1, D2, SD1, alineadas. SD2 en T2 más corta que en T1 y también fusionada su calaza con la de SD1. L1 a la altura de los espiráculos (del resto de segmentos). SV1.

En A1 a A8 con sedas D1, D2 y SD1. D2 en posición atrasada. L1 y L2, esta última pequeña. SV1 y SV2, la segunda pequeña; en A4 a A6 sobre manchas marrones en propatas. En A5 y A6 ausente SV2.

En A9 con sedas D1, D2 y SD1. L1 (ausente L2). SV1.

En T2 a A9, microsedas MD1 en el borde anterior de cada segmento y alineado con D2.

En A10 con placa anal delimitada por una amplia mancha marrón irregular en la que están D1, D2, SD1, SD2, L1, L2, L3, SV1, SV2, SV3 y SV4.

Espiráculos con calaza parda y orlados de negro.

Larva 2° estadio

Recién mudada mide 3,5 mm y en trance de muda 4,5-5 mm.

Cápsula cefálica 0,58 mm, es negra y su quetotaxia como el estadio precedente (Fig. 6). El cuerpo es verde claro con ligero tinte amarillento, incluidas la placa protorácicas, placa anal, y las calazas de las sedas. Además está salpicado

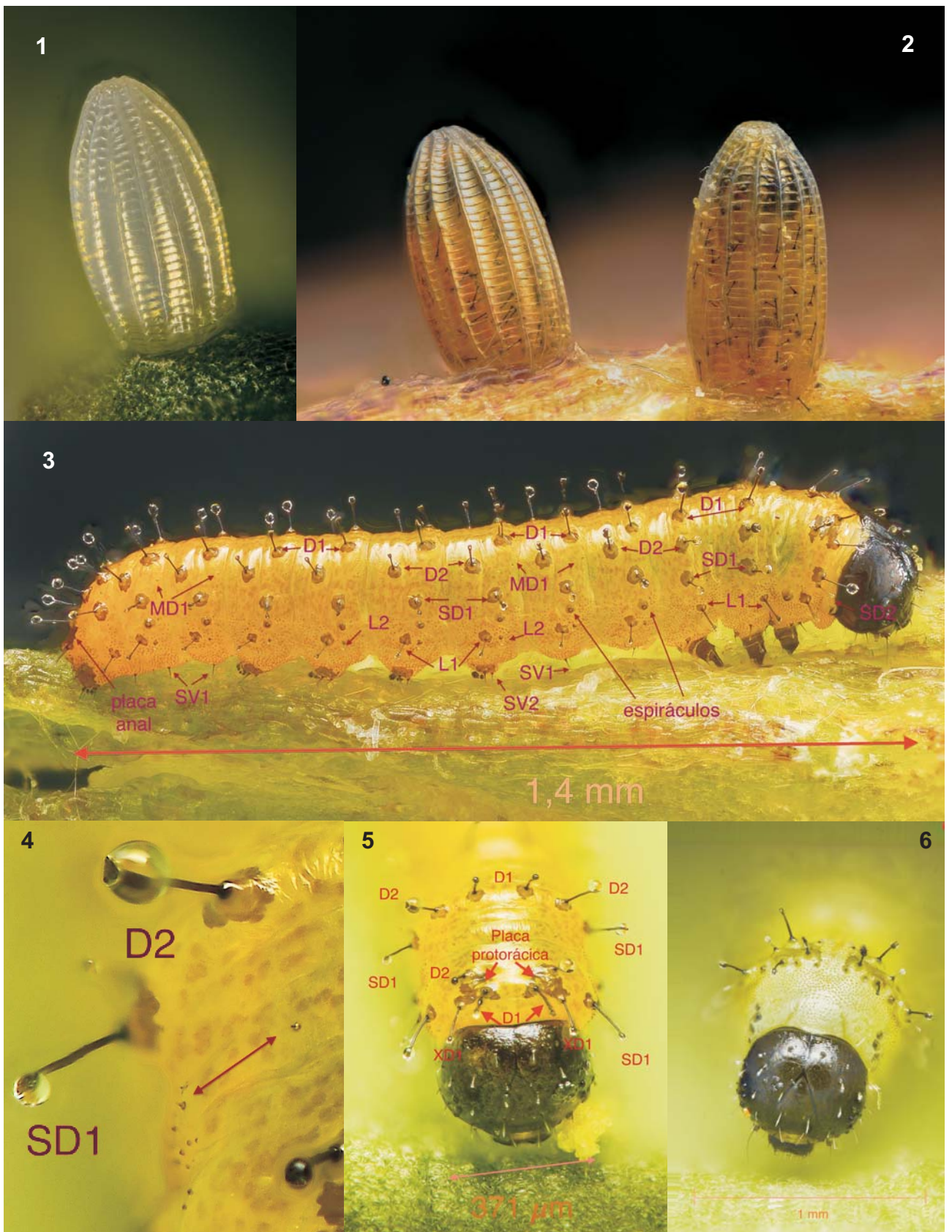


Fig. 1-6. *Elphinstonia bazae* (Fabiano, 1993). 1. Huevo recién puesto. 2. Huevos a punto de eclosionar. 3. Larva recién eclosionada. 4. Microsedas en T1 y T2 en 1º estadio y sedas D2 y SD1 segregando líquido glandular. 5. Vista frontal cápsula cefálica y segmentos torácicos del 1º estadio. 6. Vista frontal cápsula cefálica del 2º estadio.

de manchas pardas alargadas e irregulares que en la línea dorsal la delimitan claramente al formar dos franjas paralelas. Las microsedas son abundantes por toda la cutícula y muchas de ellas sólo se aprecia su calaza, dándole un aspecto verrugoso (Fig. 7).

La disposición y número de sedas como en el estadio anterior. Se agregan sedas secundarias translúcidas con punta astillada. Todas ellas segregan un líquido lechoso que al ser expulsado confieren forma de maza blanca a la seda (Fig. 8).

Segmentos torácicos. En T1 la zona dorsal con 6 pares de sedas. En T2 y T3 la zona dorsal con 3 pares de sedas. En zona subdorsal de cada segmento 2-3 pares. En zona lateral de cada segmento 1-2 pares.

Segmentos abdominales. En la zona dorsal 4 pares de sedas transparentes, detrás de D1. En zona subdorsal 2-3 pares. En zona lateral 1-2 pares.

Larva 3º estadio

Desarrollada y en trance de muda mide 7 mm. Cápsula cefálica 0,71 mm y es de color marrón con moteado oscuro, aparecen mayor número de sedas transparentes (Fig. 9). El cuerpo es verde claro sin tinte amarillo, de aspecto similar al estadio anterior, incluyendo la quetotaxia, agregándose más sedas secundarias translúcidas y muchas de ellas (especialmente en T1) son de igual o mayor tamaño que las sedas negras. 6-7 pares zona dorsal, 3 pares en zona subdorsal. En zona lateral 3 pares. Sedas SV1 a SV7 (Fig. 10).

Larva 4º estadio

Cápsula cefálica 1,086 mm, verde claro, sin tinte amarillo, como el cuerpo (Fig. 11). Aparecen un mayor número de sedas respecto al estadio anterior. Los estegmata orlados de negro.

El cuerpo, desarrollado y en trance de muda, tiene una longitud de 10,8 mm es verde claro de aspecto similar al estadio anterior, sin embargo el moteado forma anillos alrededor de las calazas de tono más pálido que el resto de la cutícula. Las sedas siguen aumentando en número pero sólo las transparentes y particularmente en la región lateral y subventral, y muchas de ellas con un tamaño y grosor incluso mayor que las sedas primarias negras. (Figs. 12 y 13)

Larva 5º estadio.

Aspecto similar al anterior estadio y con mayor número de sedas.

Cápsula cefálica 1,70 mm. El cuerpo, completamente desarrollado, tiene una longitud de 24-25 mm según individuos (n=5) (Fig. 14). Los espiráculos blancos ovalados, sin orla negra y a la altura de los mismos y con su mismo tamaño aparece una línea difuminada, sólo en segmentos abdominales (A1 a A9) de trazos discontinuos y cada uno de ellos comienza delante de cada espiráculo y termina en la parte anterior del siguiente segmento, salvo en A8 y A9.

Las sedas son mucho más abundantes que en estadio anterior y de mayor tamaño y grosor que las negras que apenas son visibles a simple vista (Fig. 15).

Discusion

El 1º estadio larvario de *E. bazae*, presenta caracteres morfológicos similares al de muchas otras especies de *Pieridae* ibéricos e incluso de géneros distintos con las que hemos podido comparar con la misma metodología fotográfica. (*Iberochloe belemia* (Esper, 1800), *Iberochloe tagis* (Hubner,

1804), *Iberchloe crameri* (Butler, 1869), *Zegris meridionalis* (Lederer, 1852) y *Pieris rapae* (Linnaeus, 1758). Concretamente nos referimos a la quetotaxia, donde todas las sedas primarias guardan la disposición, número y de parecida morfología, presentando las calazas prominentes y puntas ahorquilladas por donde segregan líquido (datos inéditos). Esta sustancia debe tratarse de un fluido oleaginoso, de lípidos insaturados, derivados de ácidos 11-hidroxi linoleico, composición química potencialmente disuasoria o repelente frente a enemigos artrópodos como ya indicaron otros autores en ensayos de laboratorio con orugas de la especie cosmopolita *Pieris rapae* y hormigas de la especie *Crematogaster lineolata* (Say, 1836).

Todas las sedas en *E. bazae* son glandulares desde el 1º al 5º estadio, incluyendo las de las cápsulas cefálicas.

Toda los datos y documentación gráfica aportada en el presente trabajo, constituye una fuente importante de información morfológica útil en Taxonomía, tanto para la identificación como para la reconstrucción filogenética (García Barros *et al.*, 2013; Ackery, 1984; de Jong *et al.*, 1996; Freitas *et al.*, 2004), siendo la primera vez que se estudia con tanto grado de detalle una especie de *Pieridae* ibérica.

Bibliografía

- BACK, W., J. OLIVARES & R. LEESTMANS 2005. Une nouvelle sous-espèce d'*Euchloe bazae* (Fabiano, 1993) d'Aragon, dans le N.-E. de l'Espagne: *iberiae* ssp. nova (Lepidoptera: Pieridae). *Linneana Belgica*, **20**: 67-72.
- BACK, W., T. KNEBELSBERGER & M.A. MILLER 2008. Molekularbiologische Untersuchungen und Systematik der palaearktischen Arten von *Euchloe* Hübner, [1819] (Lepidoptera: Pieridae). *Entomologische Zeitschrift*, **118**(4): 151-169.
- FABIANO, F. 1993. A new subspecies of *Euchloe charltonia* Doncel, 1842 from southern Spain: *bazae* ssp. nova (Lepidoptera, Pieridae). *Linneana Belgica*, **14**: 205-216.
- FREITAS A.V.L. & K. S. J. BROWN 2004. Phylogeny of the *Nymphalidae* (Lepidoptera: Papilionoidea). *Syst. Biol.*, **53**: 363-383.
- GARCÍA-BARROS, E., M.L. MUNGUIRA, J. MARTIN CANO, H. ROMO BENITO, P. GARCÍA-PEREIRA & E.S. MARAVALHAS 2004. Atlas de las mariposas diurnas de la Península Ibérica e islas Baleares (Lepidoptera: Papilionoidea & Hesperoidea). *Monografías de la Sociedad Entomológica Aragonesa (S.E.A.)*, vol. **11**, Zaragoza, 228 pp. Disponible en: www.sea-entomologia.org
- GARCIA-BARROS, E., M.L. MUNGUIRA, C. STEFANESCU & A. VIVES MORENO 2013. *Lepidoptera Papilionoidea*. In: *Fauna Iberica*, vol. 37. Ramos, M.A. *et al.* (eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC, Madrid.
- MUNGUIRA, M.L., J. OLIVARES, S. CASTRO, J.M. BAREA-AZCÓN, H. ROMO & S. MITEVA 2015. Species Recovery Plan for the Spanish Greenish Black-tip (*Euchloe bazae*). *Butterfly Conservation Europe*. Disponible en: http://www.vlindernet.nl/doc/bazae-report_english.pdf
- OLIVARES, J. & J.L. JIMÉNEZ 1996. *Euchloe bazae* Fabiano 1993 bona species (Lepidoptera: Pieridae). *Linneana Belgica*, **15**: 191-202.
- SMEDLEY, S.R., F. C. SCHROEDER, D.B. WEIBEL, J. MEINWALD, K. A. LAFLEUR, J. A. RENWICK, R. RUTOWSKI & T. EISNER 2002. Mayolenes: Labile Defensive Lipids from the Glandular Hairs of a Caterpillar (*Pieris rapae*). *Academy of Sciences of the United States of America*. Vol. **99**, No. 10 (May 14, 2002), pp. 6822-6827.
- STEHR, F.W. 1987. *Immature Insects*, Volume 1. Kendall/Hunt, Dubuque, Iowa. 754 pp.
- TOLMAN, T. & R. LEWINGTON 2002. *Guía de las Mariposas de España y Europa*. Lynx Edicions, Barcelona. 320 pp.

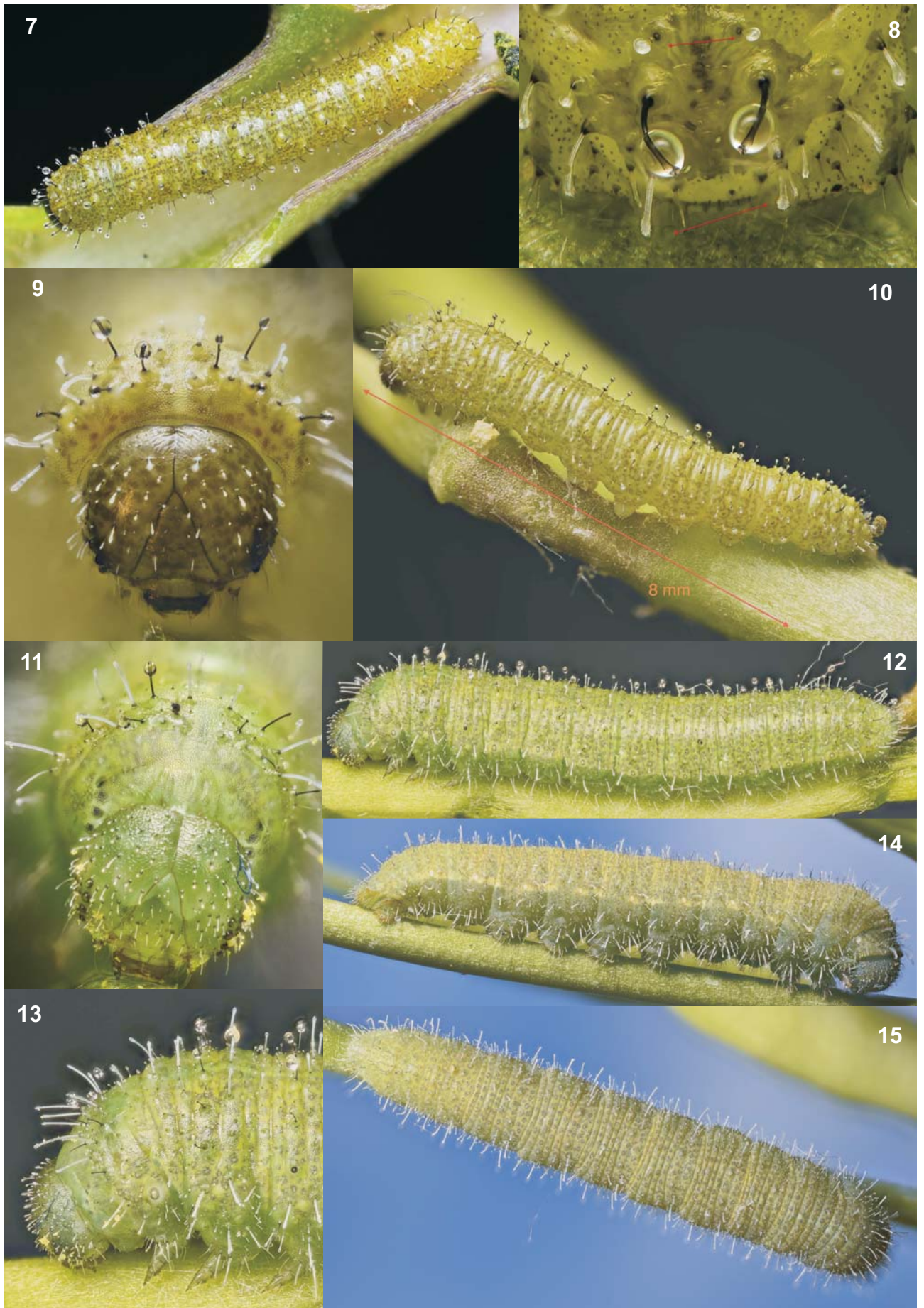


Fig. 7-15. *Elphinstonia bazae* (Fabiano, 1993). 7. Vista dorsal del 2º estadio larvario y primer segmento torácico apreciándose la abundancia de microsedas. 8. Vista dorsal de los últimos segmentos abdominales del 2º estadio larvario en la que se observan la morfología de las sedas glandulares de punta astillada cuando éstas no segregan líquido. También se observan con detalle las microsedas. 9. Vista frontal cápsula cefálica 3º estadio larvario. 10. Vista lateral de la oruga en 3º estadio. 11. Vista frontal de cápsula cefálica 4º estadio larvario. 12. Vista lateral de oruga en 4º estadio en trance de muda. 13. Vista lateral de cápsula cefálica y segmentos torácicos. 14. Vista lateral oruga en 5º estadio. 15. Vista dorsal oruga en 5º estadio.