Análisis del contenido de carbohidratos no estructurales presentes en hojas de tres especies de palmas atacadas por larvas de Brassolis sophorae (L., 1758)

Analysis on non-structural carbohydrate content present in leaves of three palm speciesattacked by larvaes of Brassolis sophorae (L., 1758)

Yanetti Contreras y Julia Flores

Universidad Pedagógica Experimental Libertador Instituto Pedagógico de Caracas

RESUMEN

Las palmas de algunos países tropicales sufren el ataque foliar causado por las larvas del lepidóptero Brassolis sophorae (L., 1758) (Lepidóptera: Nymphalidae: Brassolinae), comúnmente llamado gusano de la palma, que prolifera en Venezuela en dos períodos anuales. En el presente estudio se planteó como objetivo analizar el contenido de carbohidratos no estructurales (CNE) presentes en las hojas de las palmas Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd ex Mart, Phoenix canariensis Hort, ex Chabaud y Caryota plumosa Hort., ubicadas en el Parque del Este "Rómulo Betancourt", Caracas, y comparar el contenido de CNE entre las tres especies de palmas estudiadas, para luego relacionarlo con la categoría de daño causado por el lepidóptero B. sophorae. El contenido de CNE, en forma de carbohidratos solubles y almidón, fue determinado utilizando una adaptación del método de la antrona propuesto por Mc Cready, Guggolz, Silviera y Owens (1950). Se encontraron diferencias significativas en el contenido de CNE presentes en las especies de palmas estudiadas. Los resultados indican que no existe una relación directa entre el contenido de CNE y el tipo de ataque foliar causado por el gusano de la palma. Es posible que otras sustancias gulmicas diferentes a las analizadas en este estudio sean los estimulantes de mordida para la larva del insecto.

Palabras claves: Carbohidratos no estructurales; Palmas; <u>Brassolis sophorae;</u> Gusano de la palma

ABSTRACT

The palms of some tropical regions are damaged by the foliar attack caused by the larvae of the lepidopter Brassolis sophorae (L., 1758) (Lepidoptera; Nymphalidae: Brassolinae), commonly known as the "palm worm", which proliferates in Venezuela twice a year. This study had two purposes: a) to analyze the non-estructural carbohydrate content (NSC) present in the leaves of the palm species Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd ex Mart. Phoenix canariensis Hort, Ex Chabaud y Carvota plumosa Hort., of the East Park "Rómulo Betancourt" in Caracas: and b) to analyze the relation of this carbohydrate content with the foliar attack caused by the palm worm, as reported by Stauffer. Clavijo y Bevilacqua (1993), who found differences in the type of attack caused by the larvae in these three palm species. The anthrone method proposed by Mc Cready, Guggolz, Silviera y Owens (1950) was applied, in a modified way, to determine the NSC content (soluble carbohydrate and starch). Outstanding differences in the NSC were found. The results do not show a direct relationship between the NSC and the foliar attack of the palm worm to these species. It is posible that other type of substances are involved in this effect, but it's necessary to carry out further research about it to confirm this assumption.

Keys words: Non-structural carbohydrates, Palms, Brassolis sophorae, Palm worm

INTRODUCCIÓN

Las palmas forman parte de los símbolos del trópico, por su majestuosidad y belleza. Constituyen la principal familia arbórea de las monocotiledóneas que habitan los bosques tropicales. A escala mundial se estiman unas tres mil especies diferentes, siendo Venezuela el país que ocupa el tercer lugar en especies de palmas del continente Americano (Braun y Delascio, 1987). Caracas es un ejemplo representativo de esta belleza natural. No obstante, en los últimos años, las palmas de esta ciudad han sido afectadas por el ataque del "gusano de las palmas", Brassolis sophorae. Este lepidóptero ha sido reportado como una de las plagas que afecta las palmas, ocasionando su desfoliación hasta dejar sólo el raquis de las mísmas; es gregario, se alimenta durante el crepúsculo y primeras horas de la noche (Candia, Clavijo, Yépez, y Nicastro, (s.f.); Lever, 1970). Esta especie se encuentra ampliamente

distribuida desde el norte de América del Sur hasta el norte de Argentina, y en la Isla de Trinidad; su reproducción ocurre de marzo a abril y de octubre a noviembre (Lever, 1970).

Un estudio realizado en el Parque del Este "Rómulo Betancourt" de Caracas reportó el tipo de daño causado por la larva Brassolis sophorae en 20 especies de palmas (Stauffer, Clavijo y Bevilacqua, 1993). Especialmente llamó la atención las especies Acrocomia aculeata ("Corozo"), Phoenix canariensis ("Datilera canaria") y Caryota plumosa ("Cola de pescado plumosa"), debido al ataque diferencial de la larva reportado como severo, ligero y sin daño, respectivamente en estas especies. Aunque no se conoce aún la verdadera causa de este ataque foliar, se presume que pudiera tener un origen fitoquímico. Para la National Academy of Sciences (1978) las preferencias alimentaria a las que responden los insectos son extensas, incluyendo características físicas tales como color, olor, forma, superficie de la planta, estructura interna de la misma, pero en general se cree que la características químicas son las más importantes. Según Harbone (1988), los factores químicos asociados con la alimentación de las larvas se clasifican en atraventes, estimulantes de mordida y factores de deglución; especificamente, la dulzura de la hoja es una de las características de las plantas que actúa como estimulante de la mordida. Esto se ha podido observar ampliamente en el gusano de seda, en el que los CNE como la sacarosa y el inositol actúan como estimulantes de mordida. Sin embargo, la literatura refleja un vacío en la investigación sobre las posibles causas fitoquímicas de los hábitos alimentarios del gusano de la palma.

Por esta razón, esta investigación se planteó como objetivo determinar el contenido de carbohidratos no estructurales (carbohidratos solubles y almidón) presentes en las hojas de tres especies de palmas del Parque del Este "Rómulo Betancourt" y su posible relación con el tipo de daño causado por las larvas de la mariposa Brassolis sophorae. Este estudio se presenta como una contribución al esfuerzo por dilucidar las posibles causas fitoquímicas del ataque causado por el gusano de la palma sobre las palmas tropicales y se desarrolló dentro del contexto de la asignatura "Provecto Química Aplicada" dictada en pregrado.

MÉTODO

- a) Recolección de la muestra foliar. Se tomaron cinco individuos por cada una de las tres especies de palmas; luego, de cada individuo se seleccionaron muestras de hojas maduras, de las que se extrajeron con un horadador cinco discos de hojas de 1 cm de diámetro. Posteriormente se colocaron en sobre de papel aluminio y se congelaron in situ en una cava que contenía hielo seco. Seguidamente, se trasladó la muestra a un refrigerador a –12 °C para luego proceder a realizar los análisis químicos. La recolección se realizó en marzo de 1998, alrededor de la 11 am en cada caso, tiempo en que se observaron pupas en las palmas del Parque del Este.
- b) Extracción y determinación de carbohidratos solubles en etanol basado en el método modificado de Mc Cready, Guggolz, Silviera y Owens (1950). Se colocaron 2 discos de material foliar en un tubo de ensayo y se les agregó dos mililitros de etanol al 80%. El tubo se tapó y se colocó en baño de maría por dos horas; luego se sacó el tubo y se dejó enfriar. Posteriormente se separó el sobrenadante en otro tubo de ensavo y se hicieron extracciones continuas de los discos hasta verificarse en el sobrenadante respectivo la ausencia de carbohidratos con la prueba de la antrona, usando para ello una alicuota de 100µL. Los discos procesados se guardaron en la nevera y el sobrenadante de cada extracción se colectó en un mismo tubo de ensayo. Se colocaron luego 100µL del sobrenadante en un ependorf, al que se le agregó 900µL de antrona 0,0015 mol/L, agitándonse mecánicamente y calentándose en baño de maría a 60 °C por 20 min. Se midió la absorbancia en un spectrofotómetro a 630 nm. La curva patrón se preparó con una mezla de glucosa, fructosa y sacarosa a partir de una solución estándar de 1mg/mL de cada azúcar; los patrones fueron de 0, 5, 10, 20, 40 y 50 µg/µL.
- c) Extracción y determinación de almidón basado en el método de Mc Cready y otros (1950). Los discos procesados se sacaron de la nevera y se les añadió 2 ml de agua destilada, colocándose en un baño de maría a 100 °C por 5 min. Después de descartar el agua se agregaron 2 mL de ácido perciórico y se dejaron a temperatura ambiente por dos horas. Se separó el sobrenadante en otro tubo de ensayo y se hicieron extraccio-

nes sucesivas de los discos hasta verificarse en el sobrenadante respectivo la ausencia de carbohidratos (en este caso almidón hidrolizado) con la prueba de la antrona, en forma similar al procedimiento de la parte b. El residuo fibroso se descartó. Los patrones utilizados para la curva de calibración fueron de 0; 1; 2,5; 5; 10; 20; 40 y 50 mg/mL de una mezcla de fructosa, glucosa y sacarosa.

RESULTADOS

a) Carbohidratos Solubles

El cuadro 1 presenta los resultados de la concentración de carbohidratos solubles para las especies de palmas analizadas, con su respectivo error estándar.

CUADRO 1 Contenido de Carbohidratos Solubles en Etanol por especie de Palma

Especie	Concentración Promedio (mg/cm² superficie foliar)	Error Estándar	
Acrocomia aculeata	215,81	± 35,76	
Phoenix canariensis	467,51	± 25,23	
Caryota plumosa	706,56	± 44,50	

Estos resultados comparativos se pueden apreciar mejor en el gráfico 1.

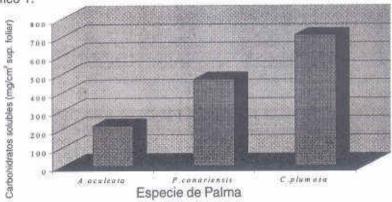


Gráfico 1. Contenido de carbohidratos solubles en etanol por especie de palma

En general se puede apreciar que la especie *C. plumosa* posee una mayor concentración de estos carbohidratos en comparación con las otras dos especies. Por el contrario, *A. aculeata* es la especie que muestra la menor concentración de carbohidratos solubles de las tres palmas analizadas

El análisis de varianza (ANAVA-I) permitió conocer que estas diferencias son significativas (p<0,05), como se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 2 ANAVA-I para el Contenido de Carbohidratos Solubles en las Especies de Palmas Analizadas

Fuentes De Variación	SC	gl	CM	E
Entre grupos	6 439 112	2	6 439 112	495,9208*
Dentro de grupos Total	350 572	27	12 948	
	6 789 684	29		

^{*}Significativo para un nivel de 0,05 (Fvc<Fvo; p<0,05)

La diferencia siginificativa encontrada entre las concentraciones de carbohidratos solubles se pudo comprobar para todos los pares de palmas comparados mediante la aplicación de la prueba de Tukey-Kramer cuyos resultados se muestran en el cuadro 3.

Cuadro 3 Diferencias Observadas entre las Medias de las Concentraciones de Carbohidratos Solubles de las Especies de Palmas Analizadas

_	A. aculeata	P. canariensis	Caryota plumosa
Medias	215,81	467,51	706,56
A. aculeata	in .	0,000036*	0,000000*
P. canariensis	0,000036*	1000 1000	0,000070*
C. plumosa	0,000000*	0,000070*	ee:

^{*}Diferencias significativas (p<0,05) entre pares de medias

b) Almidones

En cuanto al contenido de almidones, el cuadro 4 muestra los valores promedio para cada una de las especies estudiadas.

Cuadro 4 Contenido de Almidón por Especie de Palma

Concentración Promedio Especie (Mg/Cm² Superficie Foliar) Error Estánda			
Acrocomia aculeata	386,47	± 26,85	
Phoenix canariensis	1 826,30	± 163,53	
Caryota plumosa	747,18	± 46,39	

Se puede observar que la palma con mayor contenido de almidón es la especie P. canariensis, mientras que la de menor contenido es A. aculeata.

El gráfico 2 ilustra el orden en el contenido de almidón obtenido por especie de palma.

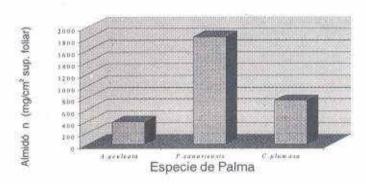


Gráfico 2. Contenido de almidón por especie de palma

Para conocer si las diferencias encontradas eran estadísticamente significativas se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, la cual reportó diferencias significativas (p< 0,05), como lo muestra el cuadro 5.

Cuadro 5 ANOVA Kruskal-Wallis por Rango

Especies	Código	N Válidos	Suma de Rangos
A aculeata	1	10	56
P. canariensis	2	10	255
C.plumosa	3	10	154

H (2, N= 30) = 25.55097 (Hvo>Hvc; p =0,000)

DISCUSIÓN

La concentración de carbohidratos solubles en las especies de palmas analizadas ocurre en un orden diferente al de la concentración de almidón. Es posible que estos resultados respondan a las características fotosintéticas propias de cada especie de palma.

Comparándose, ahora, los resultados de los carbohidratos solubles con la categoría de daño causada por la larva de *Brassolis sophorae*, según lo reportado por Stauffer, Clavijo y Bevilacqua (1993) para estas tres especies de palmas, se puede decir que se encontró una relación inversa: la palma *A. aculeata*, que contiene la menor concentración de carbohidratos solubles, es la especie de palma reportada con un daño severo; la palma *C. plumosa*, reportada como la que no sufrió ningún daño por la larva, es la que posee mayor concentración de carbohidratos solubles; y la palma *P. canariensis* que presenta valores intermedios en cuanto a la concentración de carbohidratos solubles, es la que se reporta como una especie de palma atacada ligeramente. En realidad, los resultados parecieran sugerir que a mayor contenido de carbohidratos solubles, menor es el daño foliar causado por la larva a la palma; sin embargo, esta observación requiere investigaciones más amplias con otras especies de palmas para su corroboración.

Es posible que la larva de *B. sophorae* prefiera usar como alimento aquellas palmas de bajo contenido de carbohidratos solubles (glucosa, fructosa y sacarosa) lo que significaría que otras sustancias químicas, no investigadas en este trabajo, pudieran funcionar como los verdaderos estimulantes de mordida para esta especie de lepidóptero. Esto podría significar que no todos los lepidópteros tengan las mismas preferencias alimentarias en cuanto a carbohidratos solubles se refiere.

Con relación al contenido de almidón, no se puede establecer una relación entre éste y el ataque foliar de estas palmas. Cabe destacar que el almidón no se reporta en la literatura como un alimento de preferencia de las larvas de algunas especies de lepidópteros estudiados (Harbone, 1988). Esto parece ser corroborado por los resultados obtenidos en esta investigación.

Es importante considerar que la larva de *B. sophorae* es de hábitos nocturnos y que en la noche no necesariamente los carbohidratos se encuentran en la misma proporción con relación a otros compuestos no glucídicos. Los carbohidratos solubles, como la sacarosa, y los carbohidratos de reserva, como el almidón, constituyen los principales productos del proceso fotosintético, los cuales se acumulan en las hojas durante el día, y por ser éstos fáciles de movilizar proveen de energía a la hoja durante los períodos de oscuridad (Sicher, Kremer y Harris, 1984). Por consiguiente, es de esperarse que en horas nocturnas estas palmas disminuyan relativamente su contenido de carbohidratos.

Se puede decir, en general, que la diferencia encontrada en el contenido de carbohidratos no estructurales en las tres especies de palma analizadas no parece dar respuesta definitiva a los hábitos alimentarios de la larva de *B. sophorae*, y que probablemente los carbohidratos solubles analizados en este estudio, específicamente fructosa, glucosa y sacarosa, no sean los responsables del ataque foliar generado por este lepidóptero en las palmas estudiadas.

CONCLUSIONESY RECOMENDACIONES

El análisis del contenido de carbohidratos no estructurales en las tres especies de palmas estudiadas, Acrocomia aculeata, Phoenix canariensis y Caryota plumosa, del Parque del Este "Rómulo Betancourt" de Caracas, permite arribar a lo siguiente:

•El contenido de carbohidratos solubles en etanol para las tres especies de palmas estudiadas fue significativamente diferente (p<0,05) e inverso con respecto a la categoría de daño ocasionado por la larva de B. sophorae. Se obtuvo el siguiente orden en contenido de estos carbohidratos: C. plumosa > P. canariensis > A. aculeata

*Se apreciaron diferencias significativas (p<0,05) en el contenido de almidón para las tres especies de palmas, obteniéndose el siguiente orden, no relacionado con el ataque foliar del gusano de la palma: P. canariensis > C. plumosa > A. aculeata

*Los carbohidratos no estructurales parecen no ser los verdaderos estimulantes de mordida para la larva B. sophorae. Es posible que estén presentes en las hojas otras sustancias químicas que estimulen la mordida de la larva

Para próximas investigaciones se recomienda lo siguiente: (a) analizar el contenido de carbohidratos solubles en otras especies de palmas para buscar una relación más clara con el ataque foliar del gusano de la palma; (b) colectar muestras en horas de la noche para comparar con los resultados obtenidos en este estudio; (c) analizar el contenido de otros tipos de carbohidratos y de compuestos no glucídicos que puedan estar relacionados con los hábitos alimentarios de este lepidóptero

Agradecimientos

Un especial reconocimiento en este trabajo se les brinda a las siguientes personas, sin cuya contribución no hubiese sido posible esta investigación: Lic. Fred Stauffer (Jardín Botánico) por el asesoramiento taxonómico de las palmas y su recolección; Dra. Ana Herrera por el espacio brindado en el Laboratorio de Xerofitas en el Instituto de Biología Experimental de la Facultad de Ciencias, UCV, así como a Elizabeth Rengifo y Carolina Donoso por su asesoramiento técnico; y Prof. Basilio Rodríguez por el asesoramiento entomológico.

REFERENCIAS

Braun, A. y Delascio, F. (1987). Palmas autóctonas de Venezuela y de los países adyacentes Caracas: Litopar, C.A.

Candia, R., Clavijo, J., Yépez, G. y Nicastro, E. (s.f). El gusano de las

- palmas [Folleto]. Caracas: Unidad de Promoción Ambiental del Banco de Venezuela.
- Harbone, J. B. (1988). Introduction to ecological biochemistry, 3*. ed. San Diego: Academic Press, INC
- Lever, R.J. (1970). Las plagas del cocotero. Roma: FAO. Estudios Agropecuaris Nº 77
- Mc Cready, R. M., Guggolz, J., Silviera, V. y Owens, H. S. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables. *Analytical Chemistry*, 22 (9), 1156 – 1158
- National Academy of Sciences (1978). Manejo y control de plagas de insectos, Vol. III. México: Editorial Limusa
- Sicher, R.C., Kremer, D.N. y Harris, W.G. (1984). Diurnal carbohydrate metabolism of barley primary leaves. *Plant Physiology*, 76, 165-169
- Stauffer, F., Clavijo, J. y Bevilacqua, M. (1993). Ataque de Brassolis sophorae (L., 1758) (Lépidóptera: Nymphalidae: Brassolinae) a las palmas (PALMAE) del parque del Este "Rómulo Betancourt", Caracas, Venezuela. Boletín de Entomología Venezolana, 8 (1), 95-103