EFECTO DEL ÁCIDO TÁNICO Y DEL EXTRACTO DE QUEBRACHO SOBRE EL DESARROLLO DE LARVAS DE AUTOGRAPHA GAMMA (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

A. A. Sánchez-Valdivieso 1, J. M. Pérez-Royo 1, J. G. Mayoral 1, F. J. Alarcón 1, T. F. Martínez 1 & P. Barranco 1

Con 3 tablas

RESUMEN. Se evalúa el efecto de dos taninos sobre el desarrollo larvario de *A. gamma*. Las larvas fueron alimentadas con dietas que incluían concentraciones diferentes de taninos y se registró mortalidad, peso corporal y duración de los estadios. Dosis superiores a 0,5% en dieta resultaron letales, no superando ninguna larva el quinto estadio. El efecto del tanino fue mayor en las larvas que ingirieron por primera vez el tanino a más corta edad que las que lo hicieron más tardíamente.

ABSTRACT. The effect of tannins on the larval development of A. gamma is evaluated. Larvae were fed with diets that included different concentrations of tannins. Registered values include mortality rate, body weight and duration of instars. Tannin doses above 0,5% on diets were lethal, without any larva reaching the fifth instar. Tannin effect was greater in larvae that fed on the tannin for the first time at an earlier age than those that fed on it later in life.

INTRODUCCIÓN

Autographa gamma (Linnaeus, 1758) es una especie de lepidóptero noctuido que produce importantes pérdidas económicas en los cultivos hortícolas de la provincia de Almería. La importancia de los noctuidos en la agricultura se debe sobre todo a su

¹ Dpto. Biología Aplicada, E.P.S., Universidad de Almería. 04120 Almería, España, E-mail: falarcon@ual.es

elevada polifagia de las larvas, capacidad de migración de la mayoría de las especies y aparición de resistencias a los insecticidas convencionales empleados para su control.

Aunque se han realizado numerosos estudios sobre noctuidos relacionados con su distribución, biología, fenología, control, enemigos naturales, etc, una de las líneas de investigación propuesta para el control de los insectos fitófagos se basa en el uso de sustancias antinutritivas que interfieren con el proceso digestivo de sus larvas disminuyendo así su capacidad digestiva y/o reduciendo la digestibilidad de los nutrientes del alimento. Se ha comprobado que los taninos son sustancias antinutritivas con capacidad de precipitar tanto a las enzimas digestivas del insecto como a las proteínas alimentarias, pudiendo interferir con el proceso digestivo del mismo. Aunque existen algunas referencias en insectos, su efecto sobre el desarrollo de las larvas de *A. gamma* no ha sido descrito aún. Algunos de los métodos de control se están orientando hacia el aumento selectivo de factores antinutricionales presentes en las plantas, como puede ser el aumento del contenido de taninos en las partes de las plantas hortícolas que son objeto de este tipo de plagas.

El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de dos tipos de taninos sobre el desarrollo larvario de *A. gamma* en función del estadio larvario en el que se incorporen a la dieta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las larvas de *A. gamma* utilizadas en los bioensayos proceden de una población obtenida en el laboratorio a partir de larvas y adultos capturados en cultivos de hortalizas en la provincia y en los jardines de la Universidad de Almería.

Las larvas capturadas fueron criadas en recipientes de plástico con dieta artificial estándar (Cabello *et al.* 1996). Una vez en estado de pupa, los ejemplares fueron sexados y diferenciados individualmente. Los adultos, el día de su eclosión, fueron ubicados en cámaras de ovoposición consistentes en un cilindro de papel de filtro de 15 cm de altura cerrado por ambos lados por placas de petri. En dichas cámaras se colocó un recipiente con algodón hidrófilo empapado con una solución de agua-miel al 10%. En las mismas condiciones se dispusieron los adultos capturados en los jardines de la Universidad de Almería. Los huevos se obtuvieron recortando el papel de las cámaras de oviposición y, a continuación fueron colocados en recipientes de plástico con una porción de la dieta estándar para su alimentación hasta la individualización. Los bioensayos se realizaron en incubador Koxka bajo condiciones ambientales controladas; temperatura: 25 ± 0.5 °C, humedad relativa: 80 ± 10 %, fotoperiodo luz/ oscuridad: 18/6 horas. Los bioensayos se realizaron con dos tipos de taninos diferentes: 1) hidrolizable (ácido tánico, AT) y 2) condensado (extracto comercial de quebracho, Q). En el primer bioensayo, con cada uno de los taninos se elaboraron cinco tipos de dietas con niveles

variables: 0 % (dieta control), 1 %, 2,5 %, 5 % y 10 % (en peso seco). Debido a la elevada mortalidad observada durante la realización de este bioensayo, se prepararon otras cinco dietas con menor proporción de taninos para un segundo bioensayo, en concreto fueron: 0.01 %, 0,1 %, 0,25 % y 0,5 %. En el primer y segundo bioensayo se inició la ingesta en estadio L2. Se realizó un tercer bioensayo comenzando la ingesta de taninos en estadio L3.

Para la realización de los diferentes bioensayos las larvas se individualizaron e identificaron en bandejas de plástico con 16 cámaras por bandeja y tratamiento. Se establecieron 32 repeticiones con los distintos tipos de taninos y con los diferentes porcentajes de los mismos, y en cada grupo se llevó un registro de la evolución del peso de cada larva individualizada, medido siempre un día después de la muda. Las variables registradas fueron; mortalidad acumulada de Abbot, peso en gramos de las larvas individualizadas en cada estadio y duración en días de los distintos estadios larvarios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los resultados del primer ensayo realizado con *A. gamma* en dieta control y dietas con concentraciones de taninos desde 1% hasta 10 %.

La concentración de taninos utilizada en la elaboración de las dietas, a pesar de encuadrarse dentro de los valores que aparecen naturalmente en algunas especies de plantas silvestres, resultó ser demasiado elevada, por lo que todos los individuos que ingirieron taninos murieron. Por ello no se verificó si había diferencias significativas ni en los pesos alcanzados ni en la duración del estadio. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que las dosis muy elevadas de taninos resultan letales para esta especie de lepidóptero. En este sentido, Schuler & Emden (2000) sugirieron mecanismos de actuación de los taninos en los insectos tales como la formación de complejos con endotoxinas, efectos sobre la permeabilidad del intestino y modificación del pH visceral. Asimismo estos autores postularon que los responsables de estos cambios parecen ser los productos de la hidrólisis de los taninos, que dependiendo del insecto y de la naturaleza del tanino pueden tener diferente grado de actividad.

En la Tabla 2 se muestran los resultados del segundo bioensayo realizado con concentraciones de taninos comprendidas entre 0,01 y 0,5 %. En cuanto a la duración de los estadios a estas dosis sólo se apreciaron diferencias significativas para el tercer y cuarto estadio. Por el contrario si aparecen diferencias significativas en el peso para todos los estadios. Las dosis más altas de AT siguen siendo letales pues ninguna larva superó el quinto estadio y menos de la mitad para las de quebracho, lo que parece sugerir que la heterogeniedad estructural dentro de los taninos causa variaciones notables en su actividad biológica (Feldman *et al*, 1999). En general se comprobó que las larvas

Tabla 1 - Primer bioensayo de evaluación del ácido tánico (AT) y del extracto de quebracho (Q) sobre el desarrollo larvario de *A. gamma* a partir de estadio L2.

			Estadio				
Dieta		L2	L3	L4	L5		
Control	Mortalidad (%) ¹	0,0	6,3	12,5	12,5		
	Peso larva (mg) ²	3 ±1 ^{ab}	24 ± 7	67 ± 13	183 ± 15		
	Duración estadio ³	$2,2 \pm 0,4^{a}$	$2,3 \pm 0,5$	$2,3 \pm 0,5$	$4,4 \pm 0,3$		
AT 1%	Mortalidad (%)	90,6	100,0	100,0	100,0		
	Peso larva (mg)	4.0 ± 1.0^{bc}					
	Duración estadio	$3,7 \pm 1,5^{bc}$					
AT 0.5%	Mortalidad (%)	93,8	100,0	100,0	100,0		
	Peso larva (mg)	2 ± 0^{a}					
	Duración estadio	$2,5 \pm 0,7^{ab}$					
AT 5%	Mortalidad (%)	93,8	100,0	100,0	100,0		
	Peso larva (mg)	4 ± 0^{abc}					
	Duración estadio	3,0 ± 1,1 ^{ab}					
Q 1%	Mortalidad (%)	84,4	100,0	100,0	100,0		
	Peso larva (mg)	3 ± 0^{ab}					
	Duración estadio	$3,4 \pm 1,1^{bc}$					
Q 2.5%	Mortalidad (%)	90,6	100,0	100,0	100,0		
	Peso larva (mg)	4 ± 0^{c}					
	Duración estadio	$5,0 \pm 1,0^{a}$					
Q 5%	Mortalidad (%)	93,8	100,0	100,0	100,0		
	Peso larva (mg)	4 ± 0^{abc}					
	Duración estadio	$2,5 \pm 0,7^{ab}$					
Q 10%	Mortalidad (%)	93,8	100,0	100,0	100,0		
	Peso larva (mg)	4 ± 1 ^{abc}					
	Duración estadio	$4,5 \pm 0,7^{cd}$					

Los valores son la media \pm desviación estándar. 1: Mortalidad corregida de Abbot (% acumulado) en cada estadio de desarrollo. Para cada tratamiento se utilizaron 32 larvas individualizadas. 2: Peso medio corporal de las larvas el día después de la muda. 3: La duración de los estadios se expresa en días. Valores medios con diferentes superíndices dentro de la misma columna y para un mismo parámetro indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05).

alimentadas con dietas que incluían taninos manifestaron un aumento en la duración de los diferentes estadios, una tasa de crecimiento relativa disminuida y una disminución en la eficiencia de la conversión del alimento (KOPER *et al*, 2001).

En el tercer bioensayo (Tabla 3) se utilizaron larvas en L3 y se aplicaron los mismos porcentajes de taninos que en caso anterior. Efectivamente, a diferencia del bioensayo anterior, algunos ejemplares de la dieta AT 0,5% sobreviven en L4 y algunos de AT 0,25% alcanzaron el quinto estadio. Además existieron diferencias para esta

especie en cuanto a la duración de los estadios L3 y L5 y en el peso corporal. Este hecho parece indicar que las dietas con taninos aumentan el periodo de desarrollo de las larvas, determinando un mayor consumo de alimento sin el correspondiente aumento de peso.

Tabla 2 - Segundo bioensayo de evaluación del ácido tánico (AT) y del extracto de quebracho (Q) sobre el desarrollo larvario de *A. gamma* a partir de estadio L2.

•		Estadio			
Dieta		L2	L3	L4	L5
Control	Mortalidad (%) ¹	0,0	0,0	1,5	5,5
	Peso larva (mg) ²	3 ± 1 ^c	18 ± 7 ^b	18 ± 7^{c}	160 ± 59^{a}
	Duración estadio ³	$2,1 \pm 1,0^{a}$	$3,0 \pm 0,8^{c}$	3.0 ± 0.8^{c}	$4,1 \pm 0,9^{a}$
AT 0,01%	Mortalidad (%)	13,3	44,8	50,0	57,1
	Peso larva (mg)	2 ± 4^{abc}	17 ± 4 ^b		160 ± 63 ^b
	Duración estadio	$2,4 \pm 0,6^{ab}$	$2,9 \pm 0,9^{bc}$	$2,5 \pm 0,9^{abc}$	$4,4 \pm 1,0^{a}$
AT 0,1%	Mortalidad (%)	40,0	55,2	71,4	71,4
	Peso larva (mg)		2 ± 1 ^a		175 ± 32 ^{ab}
	Duración estadio	$2,3 \pm 0,5^{ab}$	$2,3 \pm 0,5^{a}$	$2,4 \pm 0,5^{ab}$	$4,3 \pm 0,5^{a}$
AT 0,25%	Mortalidad (%)	56,7	96,6	96,6	100,0
	Peso larva (mg)	2 ± 0^{a}	2 ± 0^{a}		
	Duración estadio	$2,3 \pm 0,5^{ab}$	$2,3 \pm 0,6^{a}$	3.0 ± 0.0^{abc}	
AT 0,5%	Mortalidad (%)	83,3	92,0	100,0	100,0
	Peso larva (mg)	1 ± 0 ^a	1 ± 0 ^a		
	Duración estadio	$2,8 \pm 0,8^{b}$			
Q 0,01%	Mortalidad (%)	60,0	75,9	78,6	78,6
	Peso larva (mg)	2 ± 0 ^{ab}		16 ± 4 ^{bc}	29 ± 15 ^a
	Duración estadio	$2,2 \pm 0,4^{ab}$			4.8 ± 0.8^{a}
Q 0,1%	Mortalidad (%)	43,3	55,2	54,8	54,8
	Peso larva (mg)	2 ± 1 ^a		15 ± 4 ^{abc}	155 ± 34 ^a
	Duración estadio		$2,3 \pm 0,5^{a}$		$4,5 \pm 0,7^{a}$
Q 0,25%	Mortalidad (%)	33,3	65,6	71,4	75,0
	Peso larva (mg)	3 ± 1 bc		15 ± 7 ^{abc}	135 ± 24 ^a
	Duración estadio	$2,5 \pm 0,8^{ab}$		$2,3 \pm 0,5^{a}$	
Q 0,5%	Mortalidad (%)	46,7	65,5	78,6	78,6
	Peso larva (mg)	2 ± 1 ^{abc}			140 ± 26 ^a
	Duración estadio	$2,2 \pm 0,4^{ab}$	$2,5 \pm 0,4^{ab}$	$2,4 \pm 0,5^{ab}$	$4,6 \pm 0,9^{a}$

Los valores son la media \pm desviación estándar. 1: Mortalidad corregida de Abbot (% acumulado) en cada estadio de desarrollo. Para cada tratamiento se utilizaron 16 larvas individualizadas. 2: Peso medio corporal de las larvas el día después de la muda. 3: La duración de los estadios se expresa en días. Valores medios con diferentes superíndices dentro de la misma columna y para un mismo parámetro indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05).

Tabla 3 - Tercer bioensayo de evaluación del ácido tánico (AT) y del extracto de quebracho (Q) sobre el desarrollo larvario de *A. gamma* a partir de estadio L3.

			Estadio	
Dieta		L3	L4	L5
Control	Mortalidad (%) ¹	0,0	1,5	6,6
	Peso larva (mg) ²	40 ± 23^{c}	126 ± 74^{c}	254 ± 82^{c}
	Duración estadio ³	$2,3 \pm 0,6^{a}$	$2,6 \pm 0,8^{ab}$	$3,4 \pm 1,5^{a}$
AT 0,01%	Mortalidad (%)	6,7	26,7	42,9
	Peso larva (mg)	31 ± 11 ^{abc}	65 ± 74^{bc}	192 ± 92 ^{abc}
	Duración estadio	$2,4 \pm 0,6^{a}$	$2,2 \pm 0,4^{a}$	3,9 ± 2,1 ^{ab}
AT 0,1%	Mortalidad (%)	0,0	26,7	26,7
	Peso larva (mg)	26 ± 9 ^{ab}	65 ± 19 ^{ab}	237 ± 83^{c}
	Duración estadio	$2,3 \pm 0,5^{a}$	$2,6 \pm 0,9^{ab}$	3,8 ± 1,5 ^{ab}
AT 0,25%	Mortalidad (%)	40,0	86,7	92,9
	Peso larva (mg)	26 ± 6^{ab}	29 ± 15 ^{ab}	59 ± 1 ^a
	Duración estadio	$2,8 \pm 1,3^{a}$	3.0 ± 0.0^{ab}	$12,0 \pm 0,0^{d}$
AT 0,5%	Mortalidad (%)	20,0	93,0	100,0
	Peso larva (mg)	24 ± 8^{ab}	20 ± 1 ^{abc}	
	Duración estadio	3.8 ± 2.5^{b}	3.8 ± 0.0^{ab}	
Q 0,01%	Mortalidad (%)	0	0	0
	Peso larva (mg)	34 ± 23^{bc}	83 ± 46 ^{ab}	225 ± 66 ^{bc}
	Duración estadio	$2,1 \pm 0,5^{a}$	2.8 ± 0.7^{ab}	$4,7 \pm 1,2^{bc}$
Q 0,1%	Mortalidad (%)	0,0	0,0	0,0
	Peso larva (mg)	21 ± 14 ^a	67 ± 49^{a}	215 ± 69 ^{abc}
	Duración estadio	$2,3 \pm 0,5^{a}$	2,8 ± 1,1 ^{ab}	$5,2 \pm 1,0^{c}$
Q 0,25%	Mortalidad (%)	13,3	20,0	20,0
	Peso larva (mg)	26 ± 19 ^{ab}	70 ± 75 ^{abc}	209 ± 73 ^{abc}
	Duración estadio	$2,7 \pm 1,1^{a}$	$2,9 \pm 0,9^{b}$	$4,7 \pm 1,4^{bc}$
Q 0,5%	Mortalidad (%)	33,3	53,3	57,1
	Peso larva (mg)	25 ± 7 ^{ab}	63 ± 15 ^{ab}	158 ± 82 ^{ab}
	Duración estadio	$2,7 \pm 1,0^{a}$	$2,8 \pm 0,5^{ab}$	5.0 ± 0.6^{bc}

Los valores son la media \pm desviación estándar. 1: Mortalidad corregida de Abbot (% acumulado) en cada estadio de desarrollo. Para cada tratamiento se utilizaron 16 larvas individualizadas. 2: Peso medio corporal de las larvas el día después de la muda. 3: La duración de los estadios se expresa en días. Valores medios con diferentes superíndices dentro de la misma columna y para un mismo parámetro indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05).

No obstante, algunos estudios consultados publicados por otros autores, muestran resultados opuestos a los descritos en este trabajo. Así Panzudo *et al.* (2002) indican que las larvas de *Choristoneura rosaceana* (Harris) se desarrollan más rápido

sobre dietas enriquecidas en tanino (control +0.5% de tanino), que en dietas que carecen del mismo (control + glucosa 5%).

CONCLUSIONES

- 1.- Los resultados indican que las dos fuentes de tanino actúan como antinutritivos en larvas de *A. gamma* afectando tanto al crecimiento como a su desarrollo.
- 2.- El efecto del tanino es dependiente del tipo de tanino, la concentración utilizada y del estadio de la larva en el que se aplique.

BIBLIOGRAFÍA

APPEL H. M.:

1993. Phenolics in ecological interactions: the importance of oxidation. *Journal of Chemical Ecology*, **19**: 1521-1552.

AYRES, M. P., T. P CAUSEN, J. R. MAC LEAN, A. M. REDMAN & P. B. REICHARDT:

1997. Diversity of structure and anti-herbivore activity in condensed tannins. *Ecology*, **78**: 1696-1712.

CABELLO, T., M. P. GONZÁLEZ, L. JUSTICIA & J. E. BELDA:

1996. Plagas de noctuidos (Lep.; Noctuidae) y su fenología en cultivos en invernadero. Informaciones Técnicas 39/96. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. 155 pp.

FELDMAN, K. S., A. SAMBANDAM, S. T. LEMON, R. B. NICEWONGER, G. S. LONG, D. F. BATTAGILA, S. M. ENSEL, & M. A. LACI:

1999. Binding affinities of gallotannin analogs with bovine serum albumin, ramifications for polyphenol-protein molecular recognition. *Phytochemistry*, **51**: 867-872.

JOHNSON, K. S. & G. W. FELTON:

1995. Physiological and dietary influences on midgut redox conditions in generalist lepidopteran larvae. *Journal of Insect Physiology*, **42**: 191-198.

KOPPER, B. J., V. N. JAKOBI, T. L. OSIER, R. L. & R. L. LINDROTH:

2001. Do paper birch condensed tannins affect whitemarked tussoch moth (Lepidoptera: Lymantriidae). The ESA 2001 Annual Meeting-2001: An Entomologial Odyssey of ESA, San Diego, CA, USA.

PANZUDO, M., Y. MAUFFETTE, & P. J. ALBER:

2002. Developmental, gustatory, and behavioural responses of leafroller larvae, *Choristoneura rosa*ceana, to tannic acid and glucose. *Journal of Economic Entomology*, **93**: 1293-1299.

SCHULER, T. H. & EMDEN, H. F. VAN:

2000. Resistant cabbage cultivars change susceptibility of *Plutella xylostella* to *Bacillus thuringiensis*. *Agricultural and Forest Entomology*, **2** (1): 33-38.

Date received: 10-11-2006.