Control biológico

UN MEDIO SIMPLIFICADO A BASE DE SOYA MÁS AZÚCAR TURBINADA DE CAÑA PARA LA PRODUCCIÓN DEL HONGO ACAROPATÓGENO *HIRSUTELLA NODULOSA* PETCH EN FASE LÍQUIDA

Reinaldo I. Cabrera,[1] Marlén Vega[2] y Litzy Ayra[1]

[1] *Instituto de Investigaciones de Fruticultura Tropical. Ave 7.ª no. 3005 e/ 30 y 32, Playa, Ciudad de La Habana, entomopatogeno@iift.cu.*

[2] *Instituto de Investigaciones del Arroz. Autopista Novia del Mediodía Km 16½, Bauta, La Habana, iiarroz@bauta.esihabana.cu; iiarroz@sba.esihabana.cu*

RESUMEN

El hongo Hirsutella nodulosa *Petch resulta un importante enemigo natural de muchos ácaros fitófagos. Para su producción como bioplaguicida es muy necesaria la determinación de un medio de cultivo sencillo, económico y eficiente. Se ensayaron cinco concentraciones de soya (6, 8, 10, 12 y 14% p/v) con dos de azúcar turbinada de caña (3 y 4% p/v). Cada combinación se distribuyó por separado en tres erlenmeyers de 300 mL con 100 mL de medio cada uno, y previa esterilización en autoclave a 121ºC durante 25 min; se inocularon con una suspensión micelial del hongo a 3% v/v para su fermentación durante cuatro días en zaranda de producción continua a 27 ± 1ºC y 180 rpm como ocurrió con el inóculo. Seguidamente se recuperó cada biomasa en papel de filtro por filtración al vacío y se colocó en una estufa a 60ºC durante 24 h para determinar su peso seco en balanza analítica. Los resultados se analizaron mediante un ANOVA de clasificación doble, previa transformación de los datos en* $\sqrt{x+1}$*, y las medias se compararon entre sí por la prueba de rangos múltiples de Duncan para p < 0,05. La mejor combinación de soya más azúcar fue la de 14 y 3% p/v respectivamente, con resultados que alcanzaron hasta un promedio de 1,14 g (peso seco de micelio) por cada 100 mL de medio, lo que permite considerarlo económico y eficiente para la producción a gran escala de este acaropatógeno y como la primera experiencia en Cuba.*

Palabras claves: *Glicine max, Hirsutella nodulosa, cultivo sumergido, azúcar de caña*

ABSTRACT

The fungus Hirsutella nodulosa *Petch is an important natural enemy of many phytophague mites and it is very necessary the determination of a simple, economic and efficient culture medium for its production as bioplaguicide. Five soybean concentrations have been assayed (6; 8; 10; 12 and 14% w/v) with turbinated cane sugar (3 and 4% w/v). Each combination has been distributed separately in three erlenmeyers of 300 mL with 100 mL of medium each one. They have been sterilized in autoclave at 121ºC during 25 min and inoculated with a micelial suspension of the fungus at 3% v/v. They were fermented four days with a continuous shaker at 27 ± 1ºC and 180 rpm as well as the inoculum. Each biomass was recovered on fitter paper by vacuum filtration. They were put in an oven at 60ºC during 24 h to determine dry weight by analytical balance. The results were analyzed by an ANOVA of double classification, previous data transformation in* $\sqrt{x+1}$*. Means were compared by Duncan Multiple Range Test for p < 0.05. The best combination of soybean plus sugar was 14 and 3% w/v respectively, with a mean up to 1.14 g (dry weight of mycelium) by each 100 mL of medium. This result allows considering it as economic and efficient for the great scale production of this mite pathogen and which the first Cuban experience.*

Key words: *Glicine max, Hirsutella nodulosa, submerge culture, cane sugar*

INTRODUCCIÓN

Las investigaciones realizadas en Cuba y otros países con el hongo *Hirsutella nodulosa* Petch, al que se le considera un importante enemigo natural de muchos ácaros fitófagos [Cabrera y Domínguez, 1987 y 1987a; Minter y Brady, 1980], han motivado el interés por su utilización como bioacaricida.

La llegada al país del ácaro tarsonémido del arroz *Steneotarsonemus spinki* Smiley a finales de 1997 [Ramos *et al.*, 1998] y los estudios de *H. nodulosa* como enemigo natural de este ácaro en Cuba y Sri Lanka [Cabrera *et al.*, 2002 y 2005], así como lo difícil que resulta su control por la vía de la lucha química [Ca-

brera *et al*., 2002a], potenciaron la necesidad de profundizar en la posible utilización de *H. nodulosa* en los programas de control biológico y manejo integrado contra esta y otras plagas. Para ello se requiere disponer, en primer lugar, de un medio de cultivo y una tecnología barata que permitan la producción de este acaropatógeno a gran escala y en las cantidades requeridas para tales fines.

El presente trabajo ofrece los primeros resultados en Cuba sobre la búsqueda de un medio simplificado, económico y eficiente para la producción del hongo *H. nodulosa* en fase líquida y su importancia en la multiplicación acelerada de este control biológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la determinación del medio se pesaron por separado 36, 48, 60, 72 y 84 g de soya en grano (*Glycine max* (Lin.) Merr.) y se echaron en erlenmeyers de 2 L con 500 mL de agua destilada para su cocción en autoclave a 121°C durante 35 min. Luego el contenido de cada recipiente se batió en una batidora licuadora durante 20 s y se filtraron separadamente por un paño de lienzo, con presión manual para la extracción de cada parte líquida, las que se enrazaron con agua destilada a 600 mL para que la soya quedara a 6, 8, 10, 12 y 14% p/v, respectivamente.

A los primeros 300 mL con cada concentración de soya se le adicionó entonces el azúcar turbinada de caña a 3% p/v y a los 300 restantes a 4% p/v, y se filtraron al vacío por papel de filtro Whatmann no.1. Seguidamente se vertieron por separado 100 mL de cada una de las combinaciones de nutrientes a las diferentes concentraciones en erlenmeyers de 300 mL, y se esterilizaron a 121°C durante 25 min. En las tres repeticiones que tuvo el ensayo, el pH fluctuó entre 5,8 y 7.

Como inóculo al 3% v/v se utilizó una cepa de *H. nodulosa* recién aislada del ácaro *S. spinki* y reproducida durante 96 h en medio H [McCoy *et al*.,1972, citado por Cabrera, 2001], colocado en zaranda de producción continua a 180 rpm y una temperatura de 27 ± 1°C.

Transcurridos los primeros cuatro días de fermentación, bajo las mismas condiciones antes señaladas se recuperó por filtración al vacío la biomasa producida en cada medio, y estas se colocaron en estufa a 60°C durante 24 h para luego determinar, en balanza analítica, la producción micelial que se obtuvo en cada erlenmeyer.

Todo el trabajo se realizó bajo un diseño de bloques al azar, en mesa de flujo laminar y con pro pipeta automática. Para el análisis de los resultados se utilizó un ANOVA de clasificación doble, previa transformación de los datos en $\sqrt{x+1}$, y las medias se compararon entre sí por la prueba de rangos múltiples de Duncan para $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se logró la determinación de un medio de cultivo con buenas características para su utilización en la producción de *H. nodulosa* en fase líquida, y cuyos resultados superan significativamente a los del testigo, sin la presencia de la conidiación del hongo en los medios líquidos ensayados, pero sí una abundante biomasa en las diferentes combinaciones de soya más azúcar formada por sus micelios y conidióforos.

Se presentaron diferencias significativas para $p < 0,05$ entre el testigo y todas las concentraciones de soya más azúcar, así como entre algunas de las combinaciones de estas fuentes de nutrientes, con los mayores resultados a medida que se incrementaba el contenido de soya (*Fig. 1*). La dinámica de desarrollo de este acaropatógeno en las combinaciones de nutrientes ensayadas fue muy rápida en lo que respecta a la producción de biomasa micelial, la que alcanzó hasta un promedio de 1,14 g (peso seco) por cada 100 mL de medio a los cuatro días de fermentación a 27 ± 1°C y 180 rpm. La mejor combinación de soya más azúcar turbinada de caña fue la de 14% p/v y 3% p/v respectivamente.

La selección de los medios de cultivos a partir de sustratos naturales y sus buenos resultados no solo dependerán de su riqueza nutricional, ya sea en nitrógeno, carbono u otros elementos, sino además de las características del medio como viscosidad, turbidez y pH entre otras, según señalara Cabrera (2001).

El procedimiento metodológico utilizado para la extracción de elementos como el nitrógeno a partir de la soya fue similar al desarrollado por Cabrera (2001); resultó eficaz, lo que permitió disponer de un medio simplificado, eficiente y económico para la reproducción de *H. nodulosa*, una vez combinada la soya con el azúcar turbinada de caña como fuente de carbono. La ausencia de conidias en este caso no es consecuencia de los medios utilizados, sino de que este acaropatógeno no presenta conidiación en cultivo líquido, como ocurre con la mayoría de las cepas de *H. thompsonii* [Cabrera, 2001].

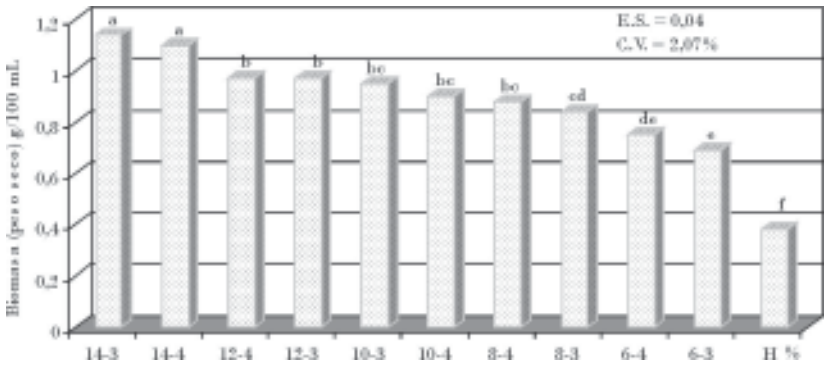


Figura 1. Producción de biomasa de *H. nodulosa* en diferentes concentraciones de soya y azúcar turbinada de caña más un testigo.

Como se aprecia en la *Fig. 1*, se presentaron diferencias significativas entre el testigo y todas las concentraciones de soya, en lo que a la producción de biomasa micelial se refiere. Ello confirma la importancia del nitrógeno orgánico en el desarrollo micelial de *H. nodulosa*, como se señaló para *H. thompsonii* por Cabrera (2001).

La posibilidad de sustituir el extracto de levadura y la peptona como fuentes portadoras de nitrógeno por la soya, así como la glucosa y la sacarosa, portadoras de carbono, por el azúcar turbinada de caña, permite disponer de un medio de cultivo mucho más económico y eficiente para la producción de *H. nodulosa,* con rendimientos de hasta 1,14 g de biomasa (peso seco) por cada 100 mL de medio a las 96 h de fermentación. Esta constituye la primera vez que en Cuba se realizan estudios para la búsqueda de un medio simplificado para la producción de este hongo en fase líquida, y cuyos resultados son de vital importancia para la producción acelerada de este control biológico si se toma en consideración su lento crecimiento tanto en fase sólida como líquida.

CONCLUSIONES

- El medio a base de soya 14% p/v más azúcar de caña turbinada a 3% p/v resulta el más eficiente y económico para la producción masiva del hongo *H. nodulosa* en fase líquida, lo que valida su utilización a gran escala.
- Las diferentes concentraciones de soya más azúcar que se ensayaron permitieron una buena dinámica de desarrollo del hongo con resultados, en todos los casos, superiores a los del testigo.
- *H. nodulosa* produce una abundante masa micelial en el medio antes señalado, y en ninguno de los casos se observó la presencia de conidias.

REFERENCIAS

Cabrera, R. I.; D. Domínguez: «El hongo *Hirsutella nodulosa,* nuevo parásito para el ácaro del cocotero *Erióphyes guerreronis*», *Cienc. y Técn. en la Agricultura*, Cítricos y Otros Frutales 10(1): 41-51, 1987.

——: «*Hirsutella nodulosa* e *Hirsutella kirchneri,* dos nuevos hongos patógenos del moho *P. oleivora*», *Cienc. y Técn. en la Agricultura*, Cítricos y Otros Frutales 10(2):139-142, 1987a.

Cabrera, R. I.: «*Hirsutella thompsonii* Fisher y los plaguicidas químicos en una nueva estrategia para el manejo integrado del ácaro del moho *Phyllocoptruta oleivora* Asmead (Acarina: Eriophyidae) en cítricos». Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Instituto de Investigaciones de Cítricos y Otros Frutales, 2001.

Cabrera, R. I.; L. Nugaliyadde; M. Ramos: «Presencia de *Hirsutella nodulosa* sobre el ácaro *Steneotarsonemus spinki* (Acari: Tarsonemidae) en Sri Lanka». Memorias II Encuentro Internacional de Arroz, Palacio de las Convenciones, 8-12 de julio, La Habana, 2002, pp 186-188.

Cabrera, R. I.; J. Hernández; A. García: «Resultado de las aplicaciones aéreas de Triazophos y *Bacillus thuringiensis* para combatir el ácaro *Steneotarsonemus spinki* (Acari: Tarsonemidae) en el cultivo del arroz». Memorias II Encuentro Internacional de Arroz, Palacio de las Convenciones, 8-12 de julio, La Habana, 2002a, pp. 206-208.

Cabrera R. I.; A. García; G. Otero Colina; L. Almaguel; A. Ginarte: «*Hirsutella nodulosa* y otros hongos asociados al ácaro Tarsonemido del arroz *Steneotarsonemus spinki* (Acari: Tarsonemidae) en Cuba», *Folia Entomológica Mexicana* 44(2):115-121, 2005.

Minter, D. W.; B. L. Brady: «Mononematous species oh *Hirsutella*», *Trans. Br. Micol. Soc*. 74(2):271-282, 1980.

Ramos, M.; H. Rodríguez; R. Chico: «*Steneotarsonemus spinki* Smiley (Acari: Tarsonemidae). Nuevo informe para Cuba en el cultivo del arroz», *Revista Protección Vegetal*. 13(1):25-28, 1998.