

EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN Y PATOGENICIDAD DE BLASTOSPORAS DE *METARHIZIUM SPP.*

Lozano F.^{1*}, Diez Del Valle F.¹, Scelsio N.S.¹, Rivas-Franco F.², Gutierrez A.C.¹

¹Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE) (CONICET-UNLP-CIC) - La Plata, Buenos Aires, Argentina;

²Plataforma de Bioinsumos, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) - Las Brujas, Canelones, Uruguay.

*Correspondencia: lozanof@cepave.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La fermentación en sustrato líquido (FSL) ha surgido como una alternativa rentable y efectiva para la producción en masa de hongos patógenos de artrópodos. A diferencia de los conidios obtenidos en la tradicional fermentación en sustrato sólido, la FSL se obtienen otros tipos de propágulos infecciosos, entre ellos, blastosporas.

La cucaracha alemana *Blattella germanica* (L.) (Insecta: Blattodea) es vector de múltiples organismos capaces de causar patologías en humanos. Diversos estudios registraron poblaciones de este insecto infectadas con el hongo entomopatógeno *Metarhizium sp* (Ascomycota: Hypocreales). Hasta el momento no se han evaluado infecciones con blastosporas de *Metarhizium sp.* para el control de cucarachas de ocurrencia urbanas. El **objetivo** de este trabajo es evaluar en nueve cepas diferentes de cuatro especies de *Metarhizium sp.*, la eficiencia de la producción de blastosporas en un medio líquido estándar y su patogenicidad en cucarachas alemanas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó con cepas de *Metarhizium sp.* pertenecientes a la Colección de Hongos Entomopatógenos y Simbiontes del CEPAVE (CONICET-UNLP-CIC). Se inoculó conidios en matraces Erlenmeyers con medio líquido Adamek modificado a razón de 5E+05 conidios/mL finales. Se agitaron orbitalmente a 250 rpm por 96 hs. Las blastosporas se cosecharon filtrando el medio con tela voile y centrifugaron a 5000 rpm (15 minutos, 4° C), luego el pellet se resuspendió tres veces en solución NaCl 0,9% v/v. Para el ensayo de patogenicidad se ajustó una concentración de 1E+07 blastosporas/mL haciendo uso de hemocitómetro para luego ser asperjadas con aerografo un volumen de 300 µl a 10 adultos de *Blattella germanica*, previamente sedadas con CO₂, por triplicado. El grupo control fue asperjado con solución salina. Las réplicas fueron dispuestas en condiciones de temperatura y humedad controlada, y se le dio seguimiento por 20 días. Los individuos muertos, y fueron colocados en cámaras con las condiciones óptimas para el desarrollo fúngico.

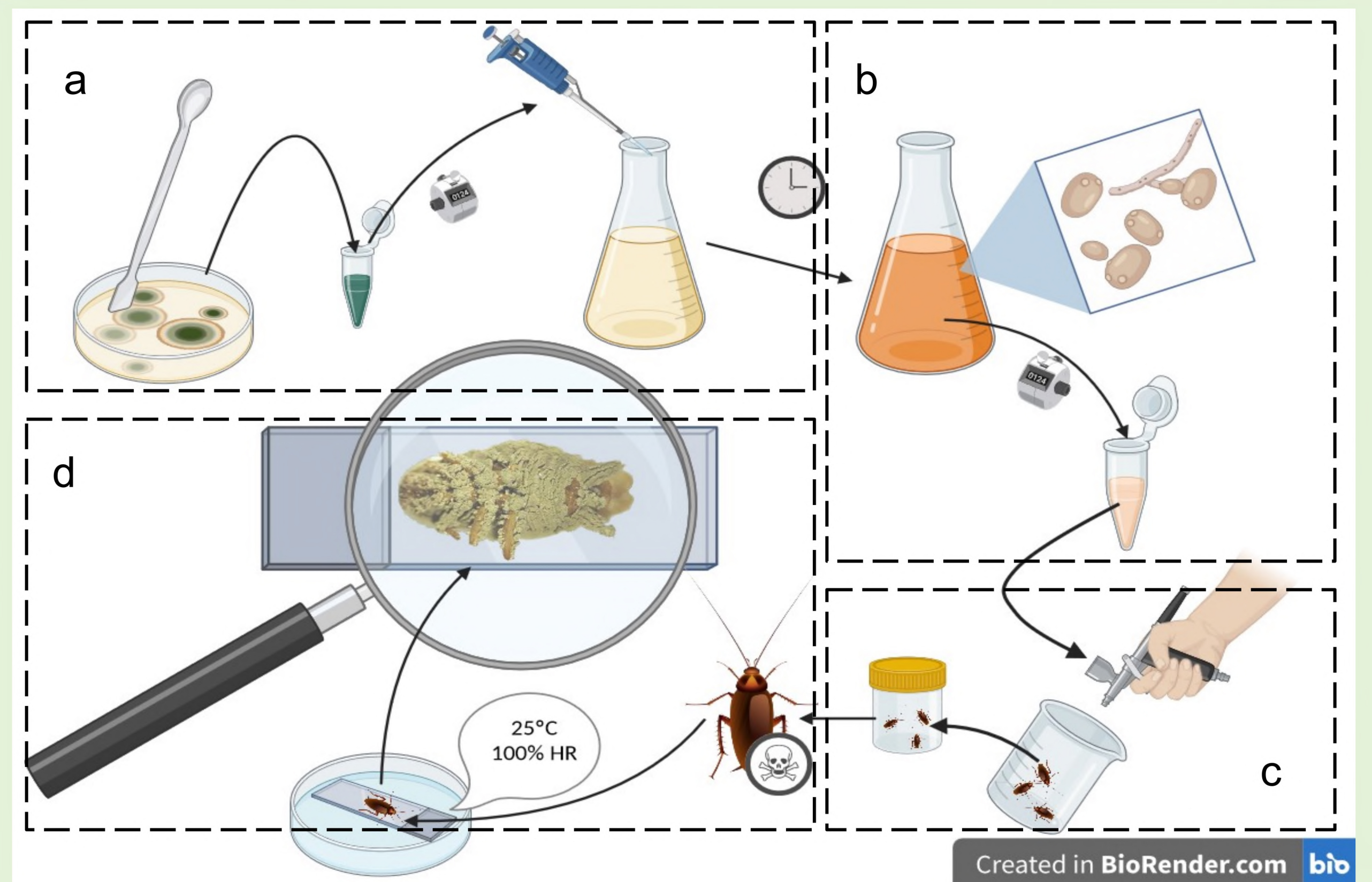


Figura 1. Resumen visual: Armado de suspensión de conidios producidos en fermentación en estado sólido, ajuste de concentración e inoculación en medio líquido (a); formulado de las blastosporas obtenidas por FSL (b); aspersión del formulado sobre adultos de *Blattella germanica* (c); separación de individuos muertos a cámara húmeda y búsqueda de indicios de micopatologías asociadas.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

TABLA 1

Cepa	Especie	Concentración producida (blastosporas/mL) ¹	Peso seco (g) ¹	pH ¹	Potencial eléctrico (mV) ¹	Concentración asperjada (blastosporas/mL)	Adultos muertos con micosis ²
5	<i>M. brunneum</i>	0				-	-
424	<i>M. argentinense</i>	0				-	-
578	<i>M. brunneum</i>	0				-	-
160	<i>M. anisopliae</i>	< 1E+07	2,78	4,4	181	4,99E+07	80%
593	<i>M. brunneum</i>	< 1E+07	2,37	3,9	207	4,99E+07	41%
350	<i>M. brunneum</i>	> 1E+07	2,39	4,3	179	5,00E+07	57%
824	<i>M. robertsii</i>	> 1E+07	2,16	4,4	181	1,00E+07	83%
85	<i>M. anisopliae</i>	> 1E+07	2,22	4,8	161	1,00E+07	41%
416	<i>Metarhizium sp.</i>	> 1E+07	2,71	3,8	213	1,00E+07	57%
Control							0%

Tabla 1: concentración de blastosporas y peso seco de biomasa producido por las distintas cepas en la FSL. Además se muestran los valores de pH y potencial eléctrico del medio líquido post-cosecha. Por último, las últimas columnas muestran la concentración que se asperjo a adultos de *B. germanica* y que porcentaje de estas cucarachas murieron y presentaron signos de micopatología asociada a *Metarhizium*.

¹Valor promedio, n=2.

²Valor promedio, n=3.

Fue posible producir blastosporas de diferentes especies de *Metarhizium* bajo esta metodología. Las blastosporas producidas fueron patógenas para la cucaracha alemana, causando la muerte de los individuos. Estos conocimientos permitirán tomar decisiones y avanzar en el desarrollo de una formulación efectiva de este hongo para el control de este insecto plaga mediante programas de manejo integrado.

Seis de las nueve cepas utilizadas fueron capaces de producir blastosporas en medio líquido Adamek modificado (fig.2), cuatro de las cuales lograron rendimientos mayores a 1E+07 blastosporas/mL (tabla 1).

Se pudo comprobar que las blastosporas fueron patógenas para adultos *B. germanica*, presentando valores de virulencia que oscilan entre 40 y 80% (tabla 1). Las blastosporas fueron capaces de colonizar el cuerpo del insecto, causar la muerte del individuo, y finalmente de emerger del cadáver del insecto como micelio, conidióforos y conidios (fig. 3).

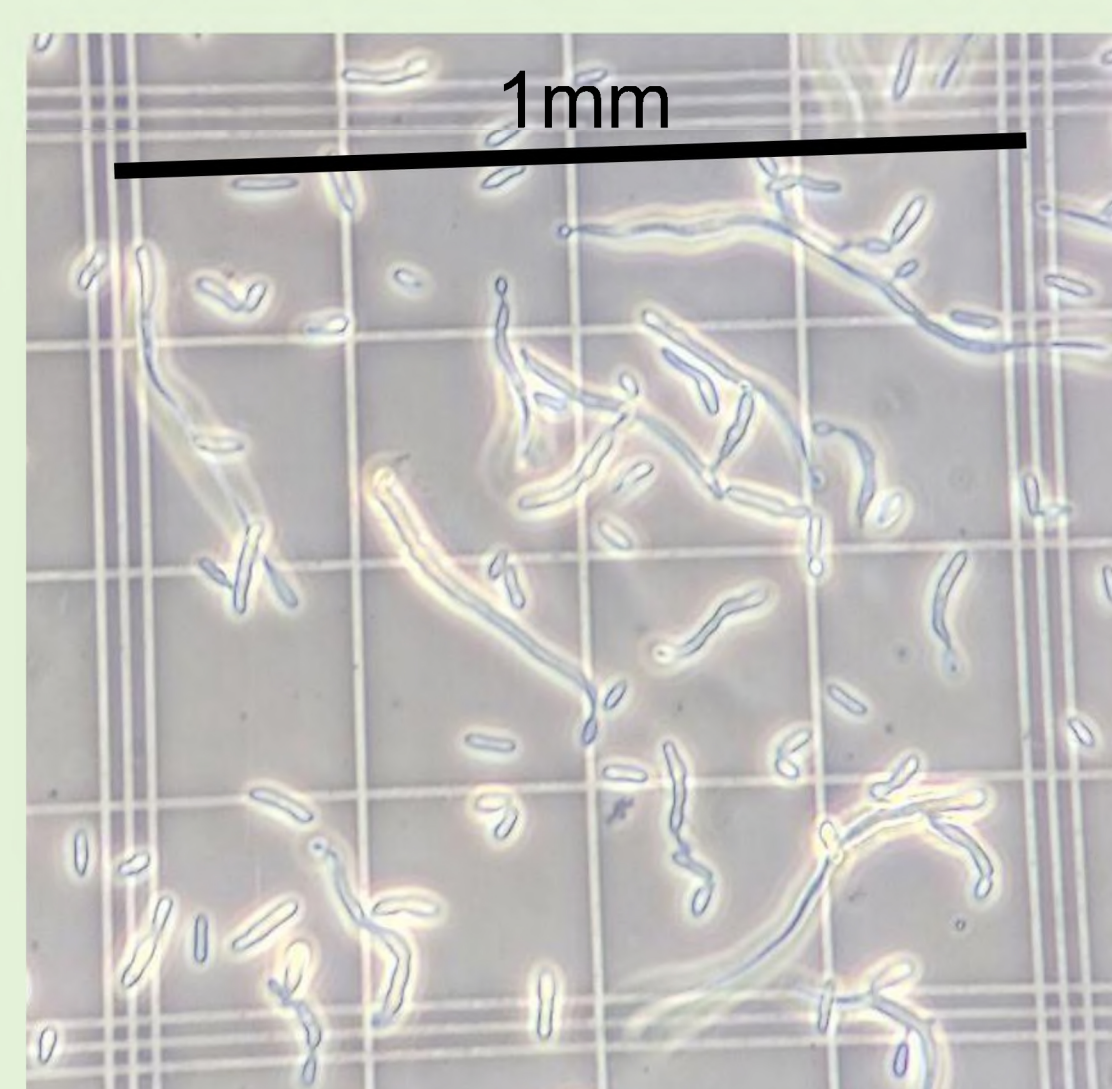


Figura 2. Dilución 1/10 de la FSL (48 hs.) en hemocitómetro (Neubauer Improved) visto bajo microscopio óptico (400x).



Figura 3. Macho adulto de *B. germanica* muerto por el tratamiento, exhibiendo signos comunes de la micopatología asociada.