

MEDIOS DE CULTIVO ECONÓMICOS PARA LA PRODUCCIÓN DE BLASTOSPORAS DE *METARHIZIUM*

COST-EFFECTIVE CULTURE MEDIA FOR THE PRODUCTION OF *METARHIZIUM* BLASTOSPORES

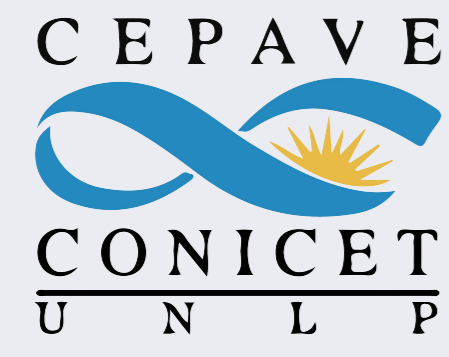
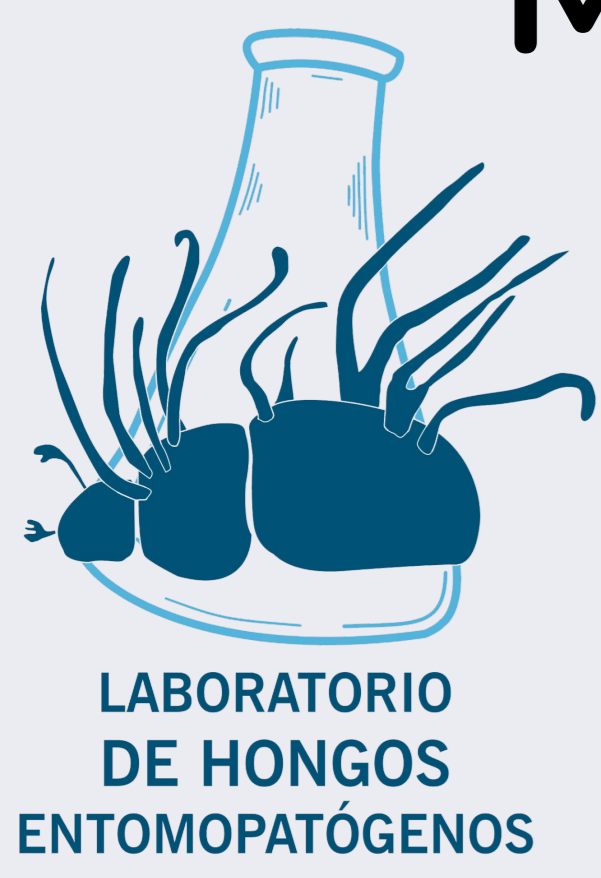
Lozano F.^{1,2,*}; Scelsio N.S.¹; Rivas-Franco F.³; Gutierrez A.C.¹

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

²Comisión de Investigaciones Científicas, La Plata, Argentina

³Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Las Brujas, Uruguay

*lozanof@cepave.edu.ar



INTRODUCCIÓN

La producción de hongos entomopatógenos en medios de cultivo líquido presenta ventajas tales como la obtención de altas concentraciones de propágulos en tiempos cortos, y el potencial de escalar el proceso. En condiciones líquidas, *Metarhizium* spp. produce además de micelio, blastosporas, estructuras unicelulares sin pared celular, análogos a los que se forman en el hemocele de los insectos durante el ciclo de infección fúngica. Las blastosporas se caracterizan por ser hidrofílicas, con rápida germinación y alta virulencia. La adopción de este proceso tecnológico por el sector industrial productivo depende de la rentabilidad económica y de la supervivencia de las blastosporas. Los ingredientes utilizados en el laboratorio para la elaboración de medios de cultivo líquidos son analíticos, de grado de refinamiento alto y de elevado costo. El objetivo de este trabajo es identificar componentes nutricionales de potencial uso industrial, más económicos para la obtención de altas concentraciones de blastosporas de *Metarhizium* spp. en condiciones líquidas y en el menor tiempo posible.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las cepas seleccionadas de la Colección de Hongos Entomopatógenos y Simbiontes del CEPAVE (CONICET-UNLP-CIC) pertenecen a: *Metarhizium hybridum* CEP160, *M. brunneum* CEP350 y *Metarhizium* sp. CEP416. A partir de colonias de estas cepas, de 15 días edad en placas de Petri crecidas en SDAY ¼, se cosecharon conidios que se suspendieron en Tween 80 al 0,05%. La concentración de conidios se determinó con hemocitómetro, y se ajustó a 1×10^7 conidios/mL. De esta suspensión, 5 mL fueron inoculados en Erlenmeyers de 250 mL con 95 mL de medio de cultivo. Los medios de cultivo utilizados contienen, 120 g/L de azúcar de mesa refinada (Ledesma SAAI, Argentina), suplementado con 30 g/L de uno de los siguientes componentes: (I) levadura nutricional (Compañía Argentina de Levaduras SAIC); (II) harina de soja; o (III) puré de papas instantáneo (Maggi®, Nestle Argentina SA). Luego de la inoculación, los matraces se incubaron en agitación orbital a 250 RPM a temperatura ambiente. A las 48, 72 y 96 h se tomó una muestra de 1 mL con tips de punta recortada, y se diluyeron en 9 mL de agua destilada, para determinar la concentración de blastosporas con un hemocitómetro. Todos los tratamientos se hicieron por duplicado y los experimentos se repitieron tres veces. Los promedios de la concentración de blastosporas obtenidas para cada cepa entre los diferentes medios fueron analizados con la prueba de Kruskal-Wallis y prueba de Dunn con corrección de Bonferroni, y se estudiaron además los tiempos de producción con ANOVA de una vía.

RESULTADOS

En todas las cepas de *Metarhizium* se determinaron diferencias significativas en la concentración de blastosporas y entre los medios de cultivo evaluados ($p < 0.001$; Figura 1). La mayor concentración de blastosporas se observó, en todas las cepas, en los medios suplementados con levadura nutricional ($p < 0.001$). En *Metarhizium hybridum* CEP160 no se observaron diferencias significativas entre los medios suplementados con harina de soja o con puré de papas ($p > 0.05$); mientras que en *Metarhizium brunneum* CEP 350 y *Metarhizium* sp. CEP416 si se determinaron diferencias significativas entre ambos medios ($p < 0.001$; Figura 1). Las diferencias entre los tiempos de medición no fueron significativas (CEP160 $F_{2/33}=1.357$, $p > 0.05$; CEP350 $F_{2/33} = 0.545$, $p > 0.05$; CEP416 $F_{2/33}=2.605$, $p > 0.05$; Figura 1). La morfología de las blastosporas en todas las condiciones y cepas fue similar (Figura 2).

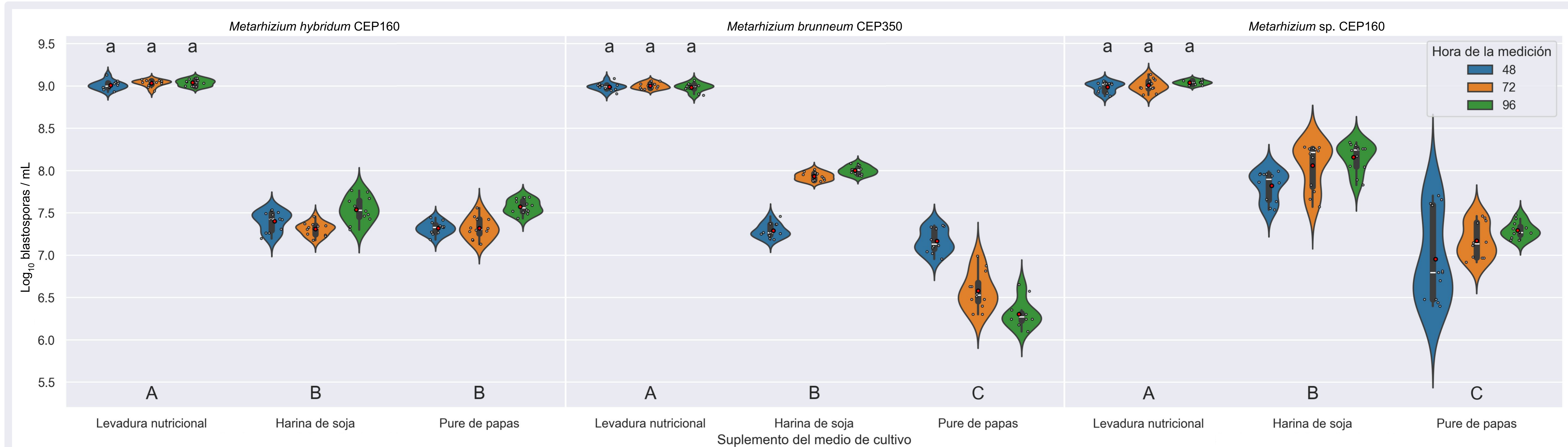


Figura 1. Concentración de blastosporas según el medio de cultivo en cada cepa de *Metarhizium*. Dentro de cada violín se muestra un boxplot: la línea blanca central es la mediana y los bigotes alcanzan 1.5 veces el rango intercuartílico. Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre medios de cultivo; letras minúsculas, entre tiempos de observación dentro del mejor medio.

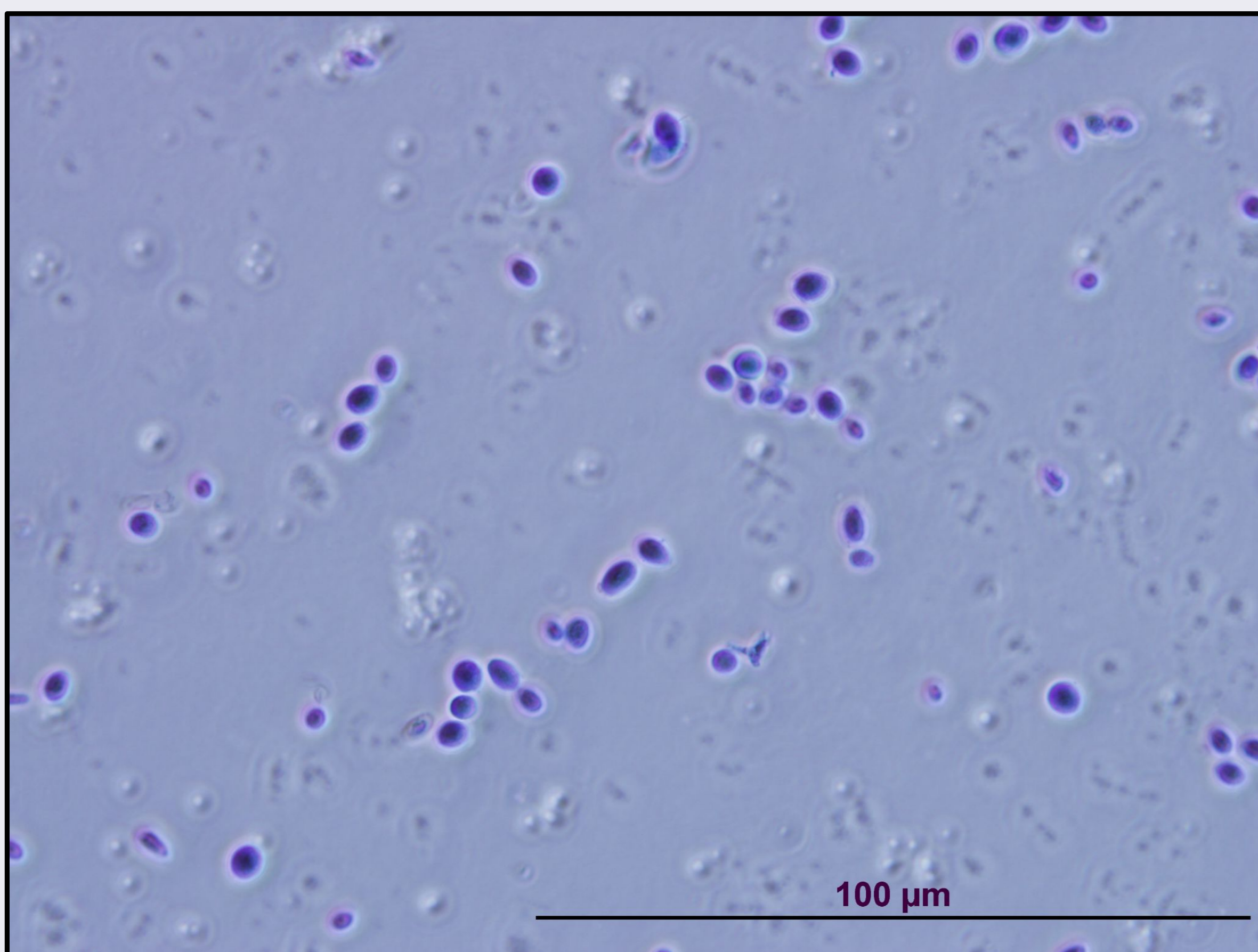


Figura 2. Blastosporas de *Metarhizium hybridum* CEP160. Las blastosporas fueron colectadas a las 48 h de cultivo en medio líquido, teñidas con azul de algodón y observadas con microscopio óptico.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El medio de cultivo Adamek es un estándar de laboratorio para la producción de blastosporas de *Metarhizium*. Este medio emplea ingredientes de grado analítico y tiene un costo aproximado de 8 USD por litro, produciendo en promedio 1×10^7 blastosporas/mL (Lozano *et al.*, 2025).

El medio líquido con sacarosa suplementado con levadura nutricional evaluado en este estudio presenta un costo cercano a 0.70 USD por litro — diez veces menor que el medio de referencia — y alcanzó concentraciones de hasta 1×10^9 blastosporas/mL, es decir, un incremento de hasta mil veces respecto al medio Adamek.

Las blastosporas obtenidas en el medio suplementado con levadura nutricional fueron visiblemente más pequeñas que las producidas en los otros medios. En concordancia con resultados previos obtenidos para otras cepas y formulaciones (Lozano *et al.*, 2025), la máxima producción de blastosporas se observó a las 48 horas de incubación, sin diferencias significativas con tiempos posteriores. Esto representa una reducción del 50% en el tiempo de producción, con el consecuente impacto positivo sobre los costos. Sin embargo, será necesario evaluar la estabilidad y la virulencia de las blastosporas producidas bajo estas condiciones.

Todas las cepas de *Metarhizium* produjeron blastosporas en los tres medios evaluados. En particular, los medios suplementados con ingredientes de grado alimenticio se presentan como una alternativa viable para la producción industrial de propágulos infectivos.



Poster y resumen
Full poster and abstract
<https://doi.org/10.5281/zenodo.17304315>



@LABHONGSENTOMOPATOGENOS