

Medio de cultivo líquido con quitosano para la producción de blastosporas de *Hirsutella nodulosa* Petch para el manejo de *Steneotarsonemus spinki* en el cultivo de arroz

Ruth León González¹, Luis Guillermo Vargas Cartagena²
Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria, INTA-Costa Rica

RESUMEN

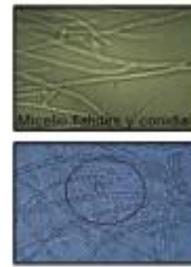
El hongo acaropatógeno *Hirsutella nodulosa* Petch se encontró parasitando *Steneotarsonemus spinki* Smiley en las plantaciones arroceras (*Oryza sativa* L.) de Costa Rica en el año 2004. Lo que abrió la posibilidad de utilizar el hongo para controlar biológicamente a la plaga. Trabajos preliminares pusieron de manifiesto que el hongo es muy lento en su crecimiento y producción de conidias en los medios de cultivo sólidos tradicionales, por lo que el objetivo fue determinar un medio de cultivo líquido eficiente en la producción de propágulos. Se evaluaron 12 medios líquidos los cuales se depositaron en frascos de 250 ml con tapa hermética y previamente esterilizados. Cada frasco contuvo los nutrientes y discos de 4 mm del "medio H sólido" con el hongo *H. nodulosa*. El medio líquido con los siguientes componentes: dextrosa (5 g), sacarosa (10 g), extracto de levadura (5 g), peptona (0.5 g), quitosano (escamas u hojuelas de *Heterocarpus vicarius*) (10 g) y agua (1 l), fue el que mostró producción de blastosporas (espora de reproducción asexual), equivalentes a una concentración de 3.19×10^7 / cc en un periodo de 14 días. Su posterior inoculación en el medio H sólido y en arroz cocido mostró abundante esporulación del hongo en su fase conidial, mediante la producción de filidies y conidias típicas de *H. nodulosa*. En contraste con los otros medios líquidos evaluados que no manifestaron producción de blastosporas, al no contener esa sustancia diferencial en este caso el quitosano.

INTRODUCCIÓN

En estudios de reconocimiento de entomopatógenos nativos supresores del ácaro *S. spinki*, demuestran que *H. nodulosa* es el único acaropatógeno, asociado al ácaro en las regiones productoras de arroz hasta la fecha (León 2011). Fueron recolectadas y conservadas dos cepas en el Laboratorio de Control Biológico del INTA para ser estudiado y reproducido masivamente con el fin de utilizarlo como una alternativa del control biológico de esta plaga. Investigaciones sobre el crecimiento micelial han demostrado que el hongo presenta un lento crecimiento de 0,67 mm diarios, por lo que se planteo este estudio para desarrollar medios de cultivo artificiales para la reproducción masiva y comprobar su utilización como controlador biológico del *S. spinki*, de manera que contribuya a su manejo en los sistemas productivos de arroz en Costa Rica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los 12 medios líquidos evaluados, **Agar papa dextrosa (PDA)**: papa (300 g), dextrosa (20 g), **Saborud papa agar (SDA)**: saboreau (5 g), dextrosa (40 g), **Medio E**: dextrosa (10 g), sacarosa (5 g), extracto de levadura (5 g), peptona (0.5 g), **Medio H + quitina**: dextrosa (5 g), sacarosa (10 g), extracto de levadura (5 g), peptona (0.5 g), quitina 1% (10 g), **Medio H + quitosano**: dextrosa (5 g), sacarosa (10 g), extracto de levadura (5 g), peptona (0.5 g), quitosano (10 g), **Medio H**: dextrosa (3 g), sacarosa (10 g), extracto de levadura (0.3 g), peptona (3 g), agua (600 ml), **Medio H**: dextrosa (5 g), sacarosa (10 g), extracto de levadura (5 g), peptona micológica (0.5 g), **Glucosa-maltosa**: maltosa (15 g), glucosa (10 g), peptona (10 g), **Papa-Zanahoria**: papa (50 g), zanahoria (50 g), **Papa-Zanahoria+ quitina**: papa (50 g), zanahoria (50 g), agar (35 g), quitina (10 g), agua (1 l), **Jugo de vegetales (V8)**: V8 (100 ml), agar (9 gr), CaCO₃ (1,5 g), agua (500 ml) y **Soya +Azúcar**: soya (84g), azúcar (15g), agua (500 ml).



RESULTADOS El medio líquido **Medio H + quitosano**, fue el que mostró producción de blastosporas, equivalentes a una concentración de 3.19×10^7 / cc en un periodo de 14 días. Su posterior inoculación en el medio H sólido y en arroz cocido mostró abundante esporulación del hongo en su fase conidial, mediante la producción de filidies y conidias típicas de *H. nodulosa*. En contraste con los otros medios líquidos evaluados que no manifestaron producción de blastosporas, al no contener esa sustancia diferencial en este caso el quitosano.

CONCLUSIONES

- El medio líquido H + Quitosano produjo blastosporas equivalentes a una concentración de 3.19×10^7 / cc en un periodo de 14 días.
- Las blastosporas inoculadas en medio H sólido y en arroz cocido mostró abundante esporulación del hongo en su fase conidial, mediante la producción de filidies y conidias típicas de *H. nodulosa*.
- se redujo el tiempo efectivo de producción de conidias del hongo.

BIBLIOGRAFÍA

- Cabrera, R. I., Vega, M., Ayra, L. 2006. Un medio simplificado a base de soya más azúcar turbinada de caña para la producción del hongo acaropatógeno *Hirsutella nodulosa* Petch en fase líquida. *Fitosanidad, Cuba*. 10(4):285-287.
- French, E. R., Hebert, T.T. 1982. Métodos de investigación fitopatológica.
- McCoy, C. W., Hill, A. J. y Kanavel, R. E. 1992. A liquid medium for the large-scale production of *Hirsutella thompsonii* in submerged culture. *Journal of Invertebrate Pathology* 19: 370-374.

¹ Investigadora Entomóloga del Instituto Nacional de Innovación y Transferencia de Tecnología Agropecuaria, INTA / Costa Rica. Teléfono.: (506)2231-5055. Correo: rleon@inta.go.cr.

² Investigador Fitopatólogo del INTA / Costa Rica. Teléfono.: (506)2231-5055. Correo: lvargas@inta.go.cr.

