

# PRODUCCION MASIVA DE CONIDIAS, BLASTOSPORAS Y MICROESCLEROCIOS DE Metarhizium anisopliae EN LSF

BICH, Gustavo A.a; CASTRILLO, María L.a,b; KRAMER, Luis F. a; VILLALBA, Laura L.a; ZAPATA, Pedro D.a,b;

a) Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Instituto de Biotecnología Misiones (InBioMis). Laboratorio de Biotecnología Molecular. Posadas, Misiones, Argentina. b) CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas). Posadas, Misiones, Argentina.

**30FMB** 







## INTRODUCCION

La agricultura busca actualmente un cambio hacia el manejo sustentable de plagas con un uso preponderante de los biopesticidas frente a los pesticidas químicos. La evaluación, producción, aplicación y comercialización de cualquier biopesticida requiere la disponibilidad de grandes cantidades de propágulos del agente de biocontrol. Algunos hongos microscópicos poseen capacidades únicas de biocontrol por sus mecanismos de persistencia, propagación e invasión y por los tipos de propágulos producidos. Algunas cepas de hongos biocontroladores pueden producir conidias, blastosporas, microesclerocios y micelio (biomasa) como propágulos para aplicar en control biológico. La fermentación en estado líquido (LSF) se presenta como un proceso biotecnológico promisorio en la producción masiva de micopesticidas. Sin embargo la influencia de diferentes factores como medios de cultivos líquidos, fotoperiodo, agitación o cepas fúngicas biocontroladoras aún resta por conocer

#### **OBJETIVO**

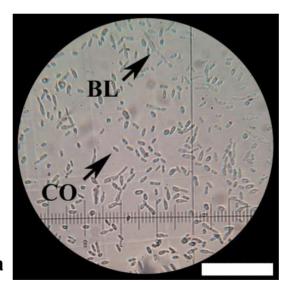
Los objetivos de este trabajo fueron evaluar la influencia de tres medios de cultivos líquidos, fotoperiodo y agitación en la producción masiva líquida del hongo biocontrolador Metarhizium anisopliae.

#### **METODOLOGIA**

En la producción de propágulos de agentes biocontroladores se evaluaron dos aislamientos de M. anisopliae codificados como LBM 217 y LBM 218, que están depositados en cepario del Instituto de Biotecnología Misiones. Ambos aislados se cultivaron en tres medios de cultivo líquidos: extracto de malta 1,27% p/v, extracto de levadura 0,3% p/v adicionado con dextrosa al 1% p/v y un medio de cultivo natural compuesto por extracto de levadura comercial al 0,3% p/v adicionado con melaza de caña de azúcar al 3% p/v. La incubación se realizó a 28 ± 1 ° C en tres condiciones de fotoperíodo: 24 h de luz; 12 h de luz seguidas de 12 h de oscuridad; o 24 h de oscuridad. Además se evaluaron tres condiciones de agitación (aireación): condiciones estáticas, 10 rpm o 200 rpm. La producción de propágulos se evaluó cada 48 h durante seis días.

### **RESULTADOS Y DISCUSION**

Ambos aislamientos produjeron conidias, blastosporas, así como un tipo de propágulo compacto melanizado de tamaño de 70 a 270 µm llamado microesclerocio que se presenta sólo en algunas cepas de hongos biocontroladores. Con base en estas condiciones experimentales, los rendimientos de propágulos líquidos (conidias, blastosporas y microesclerocios - Figura 1) tuvieron diferencias estadísticas entre las condiciones evaluadas y fueron dependientes de la cepa. Para la cepa M. anisopliae LBM 217 la mayor producción de propágulos, entre 2,4 y 2,8 × 106 propágulos / ml, se obtuvo en medio de extracto de levadura adicionado con dextrosa, a 200 rpm, e inclusión de luz al sexto día de incubación. En el caso de M. anisopliae LBM 218 la mayor producción de propágulos, entre 2,3 y 2,6 × 106 propágulos / ml, se obtuvo en medio de extracto de levadura comercial adicionado con melaza de caña de azúcar, a 200 rpm, y 24 h de luz al sexto día de incubación.



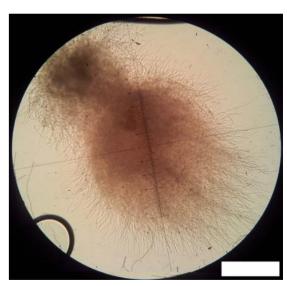


Figura 1. Fermentación en estado liquido de las cepas LBM 217 y LBM 218 de M. anisopliae. a) Propágulos típicamente producidos por M. anisopliae. CO: Conidia. BL: Blastospora. Barra = 45 µm. b) Detalle de los microesclerocios producidos por las cepas de M. anisopliae. Barra = 90 µm.

CONCLUSIONES: Los ensayos de cultivo en matraces evaluados nos permitieron seleccionar el medio de cultivo y las condiciones óptimas para el cultivo de cepas de M. anisopliae en fermentación líquida enfocadas en la producción masiva de propágulos para micopesticidas.