



DIRECCIÓN DE INVESTIGACIONES
INFORME ANUAL 2008

CORPORACIÓN BANANERA NACIONAL
(CORBANA)



EDITOR: JORGE A. SANDOVAL

ABRIL 2009



EFFECTO DE LA ADICIÓN DE FUENTES NITROGENADAS, SOBRE EL CRECIMIENTO DEL HONGO *Beauveria bassiana* ((CB-60)

Alejandro Rodríguez M.

Dada la escasez de arroz (sustrato) que se presentó durante el segundo semestre del año 2008, hubo en cierta medida un desfase entre la producción y la necesidad de los productos biológicos para abastecer a los programas de aplicación previamente establecidos en las investigaciones. El impacto no fue mayor debido a que durante el primer semestre se pudo almacenar alguna cantidad de material que se utilizó en el segundo semestre.

Esta situación conlleva a la necesidad de investigar sobre otras alternativas viables de sustratos, pero a la vez, obliga también a investigar sobre cómo hacer que este material rinda la mayor concentración de conidios por volumen de sustrato, dado que este es el parámetro que se utiliza para su dosificación en el campo.

Los elementos esenciales que estos microorganismos requieren extraer de un medio (natural o artificial) para crecer, desarrollarse y multiplicarse son carbono, nitrógeno, fósforo, potasio, azufre y magnesio, así como de algunos oligoelementos como el hierro, el manganeso, el cobre el cobalto y el zinc (Batista-Alves, 1998). No obstante, los dos primeros (carbono y nitrógeno), son básicos para lograr su reproducción en sustratos como el arroz, el maíz o el trigo. Para estos sistemas de producción, el carbono se obtiene de carbohidratos complejos (almidones) o de azúcares simples como la sacarosa o la dextrosa, que también son fuente de energía de fácil obtención. Por otro lado, el nitrógeno debe extraerse del sustrato (arroz) que a menudo no aporta cantidades suficientes, limitando el desarrollo del hongo. Por esta razón, algunas investigaciones utilizando al hongo *Metarhizium anisopliae*, han demostrado un efecto positivo de la adición al medio de sustancias nitrogenadas como extracto de levadura (Universidad Autónoma de México-OMS, 1984), la levadura de torula (Luján, M. *et al.*, 1987) y el nitrógeno amoniacal (CENGICANA, 1998), sobre la producción y viabilidad del producto final.

El objetivo del experimento fue evaluar el efecto de la adición de nitrógeno a tres diferentes concentraciones, utilizando tres productos de diferente naturaleza: un abono orgánico foliar a base de aminoácidos (12,8% de nitrógeno orgánico), sangre seca de bovino (13% de nitrógeno, aproximadamente) y nitrato de amonio (46,64% de nitrógeno).

Los tratamientos fueron preparados adicionando 5 ml de una solución al 5, 10 y 15% de cada producto, a bolsas de polipropileno conteniendo 400g en promedio de arroz previamente esterilizadas e inoculadas con 15 ml de una suspensión altamente concentrada de conidios de *B. bassiana* (108). Se inocularon un total de 10 bolsas (10 repeticiones) por tratamiento. El aporte de nitrógeno por bolsa de 400g de sustrato, finalmente quedó establecido en 32, 64 y 96 ppm para los tratamientos con adición de 5 ml de suspensión al 5, 10 y 15% de abono orgánico foliar, respectivamente; para los tratamientos con sangre seca, el aporte de nitrógeno para cada tratamiento fue de 32,5, 65 y 97,5 ppm; y para los tratamientos con nitrato de amonio el aporte fue de 116,6, 233,2 y 349,8 ppm. Adicionalmente se utilizaron dos tratamientos testigos: uno absoluto (sin adición de nitrógeno y sin adición de los 5 ml extra de líquido) y uno relativo (sin adición de nitrógeno, pero con adición de 5 ml de líquido extra); esto serviría para evaluar si el simple hecho de aplicar 5 ml de más, sería un factor a considerar en la productividad.

Una vez inoculadas las bolsas estas fueron agitadas de tal forma que el inóculo quedara homogéneamente distribuido por todo el sustrato. Las bolsas a continuación fueron incubadas en salas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 8 días mientras se producía la germinación y colonización del hongo. Luego de esto el material se extrajo de las bolsas y fue colocado en recipientes plásticos abiertos que fueron sometidos a secado mediante la utilización de un deshumidificador, esto por espacio de 7 días. Este proceso de estrés intensifica la producción de esporas en el hongo *B. bassiana*.

Finalmente, se extrajo una muestra compuesta por tratamiento con un peso aproximado a los 50g, la cual fue analizada utilizando dos parámetros: a) concentración (conidios/g), utilizando una cámara de conteo (Neu Bauer 0,1mm prof. y

5mm área) y b) viabilidad (%), inoculando 100µml de una suspensión 1×10^{-2} en medio PDA, que luego de 18 de incubación a $26 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$, fue evaluada al microscopio a 40X de poder, cuantificando las esporas germinadas. El cuadro 6 detalla los resultados obtenidos al promediar los niveles de concentración de 4 réplicas realizadas por triplicado y de viabilidad, al haber promediado 3 réplicas de cada muestra.

Los resultados obtenidos mostraron claramente una respuesta positiva de todos los productos al incrementarse la concentración de nitrógeno adicionada, evidenciando que este elemento es esencial para el desarrollo y fructificación de *B. bassiana*, de igual forma como se señaló para *M. anisopliae*. Esto fue más claro para el parámetro de concentración. El mejor tratamiento fue la máxima concentración de nitrógeno, aportada por el abono orgánico foliar (5 ml de solución al 5%, que aportó 96 ppm de nitrógeno), seguido del tratamiento con sangre seca a su máxima concentración (5 ml de solución al 15%, que aportó 97,5 ppm de nitrógeno). Se aprecia claramente que las fuentes orgánicas de nitrógeno, aportan mayores concentraciones que las que se consiguieron con adición de nitrógeno amoniacal, que es una fuente inorgánica. No obstante, la simple adición de nitrógeno, se transformó en una mejora en la productividad de conidios. Se observaron evidentes diferencias entre la adición de 5 ml o no de agua (testigos). El cuadro 44 y las figuras 63 y 64 muestran los resultados obtenidos.

Cuadro 44. Efecto de la adición de diferentes fuentes nitrogenadas, sobre la concentración y viabilidad de Beauveria bassiana (CB-60).

TRATAMIENTO	CONCENTRACIÓN (CON. VIABLES/g)	VIABILIDAD (%)
t. Org. Fol. 5%	7,50E+08	92,6
t. Org. Fol. 10%	9,20E+08	93,4
t. Org. Fol. 15%	1,19E+09	93,9
Sangre seca 5%	5,76E+08	93,1
Sangre seca 10%	4,87E+08	94,8
Sangre seca 15%	9,31E+08	93,5
Agua 5%	3,74E+08	89,6
Agua 10%	4,81E+08	93,6
Agua 15%	5,74E+08	94,2
Testigo relativo	3,22E+08	96,1
Testigo absoluto	3,35E+08	94,9

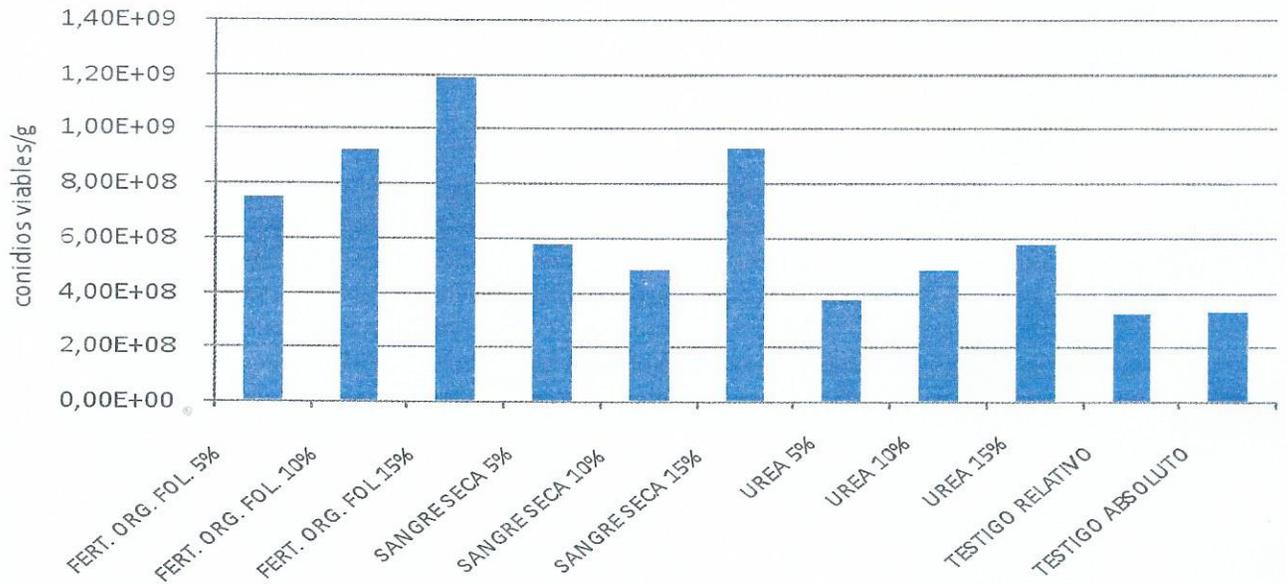


Figura 63. Concentración de *Beauveria bassiana* observada según tratamiento con fuentes nitrogenadas.

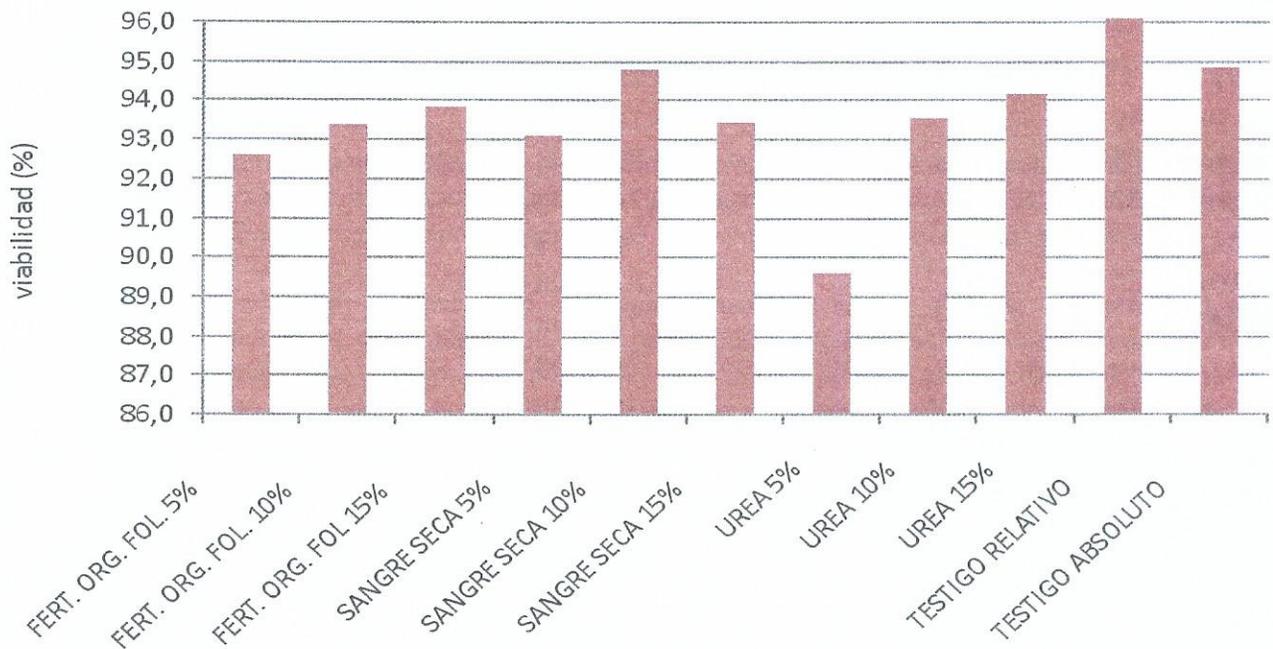


Figura 64. Viabilidad de *Beauveria bassiana* observada según tratamiento con fuentes nitrogenadas.

Literatura citada:

1. Batista-Alves. 1998. Controle Microbiano de Insetos. Fundação de Estudos Agrários. FEALQ. Brasil. 1163p.
2. CENGICAÑA, 1998. Producción y Manejo del Hongo *Metarhizium anisopliae* (Metch) sor. Centro Guatemalteco de Investigaciones en Caña de Azúcar. Editores Alemán M. y Ovalle, W. Guatemala. 21p.
3. Lujan M.; Rodríguez R.M.; Cabrera, T.; Vázquez, T. y Sánchez, E. 1987. Comparación de diferentes fuentes de nitrógeno y carbono para el crecimiento de *Metarhizium anisopliae* en la producción de conidios. Ciencia y Tecnología. Protección de Plantas. INISAV. Cuba. V (4), p: 31-38.
4. Serie Ecológica, 1984. Informe Técnico sobre el Agente de Control Biológico *Metarhizium anisopliae*. Universidad Autónoma de México-Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. OMS. México. 13p.