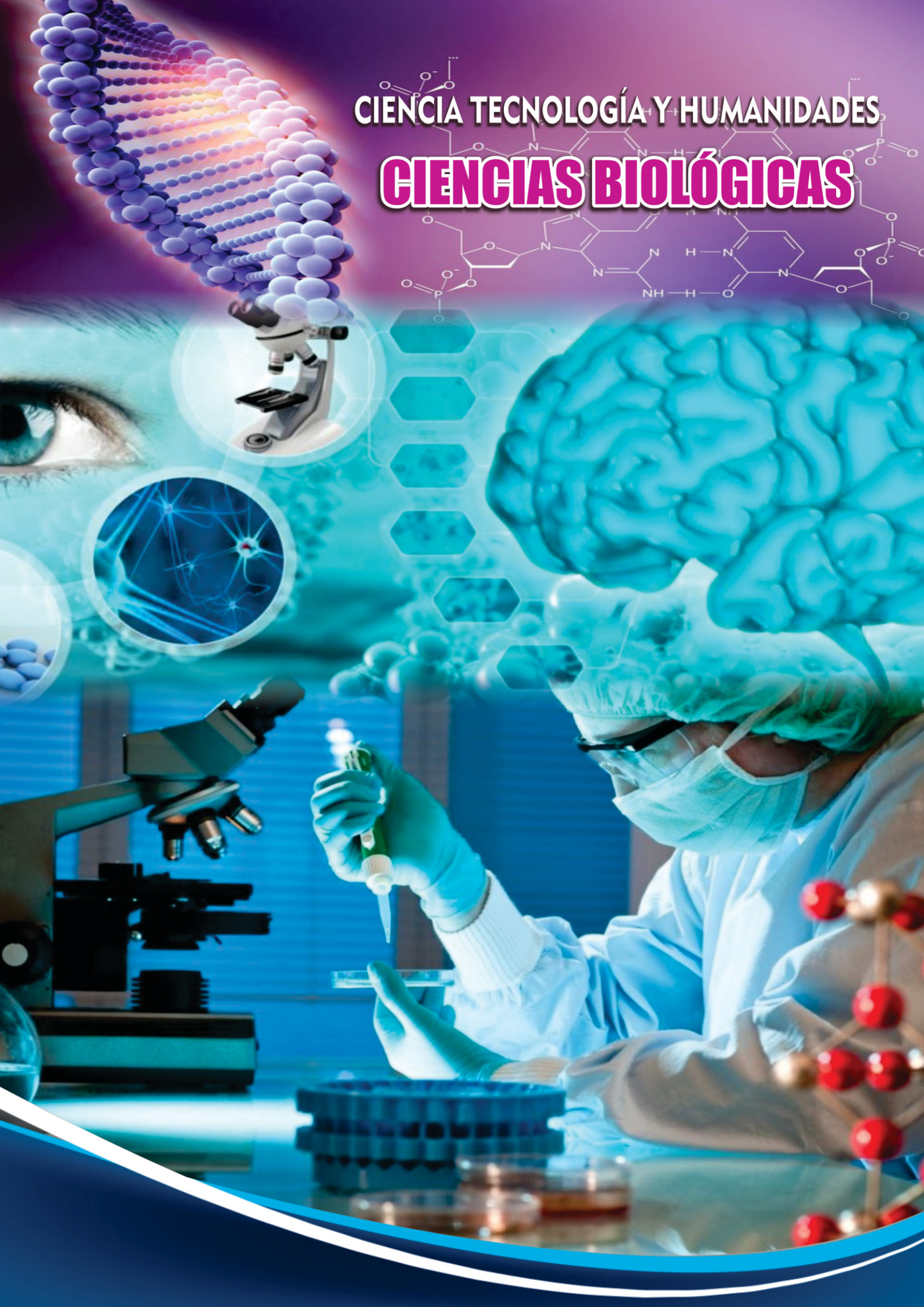


CIENCIA TECNOLOGÍA Y HUMANIDADES

CIENCIAS BIOLÓGICAS





CIENCIAS BIOLÓGICAS



CRECIMIENTO DE *BEAUVERIA BASSIANA* EXPUESTA A LA LUZ ULTRAVIOLETA EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Manuel A. Tocas Ordemar.¹, Grecia O. Chiroque P.¹

Resumen

Se evaluó el efecto de diferentes tiempos de exposición a luz ultravioleta UV – C sobre el crecimiento de *Beauveria bassiana*, cepa nativa de Lambayeque. Se usó el medio caldo Saboraud para la reactivación y resuspensión de la cepa a una concentración de 3×10^2 esporas/mL. Las placas Petri con Agar Papa Dextrosa fueron sembradas con 100 μ L del inóculo ya estandarizado señalado anteriormente, las placas fueron expuestas a la lámpara que emite radiación ultravioleta con una longitud de onda de 254 nm. El tiempo de exposición de las placas fue de: 6 horas; 12 horas y 24 horas, utilizando un microscopio con el objetivo de 40X se realizó la lectura de los conidios germinados (como indicador: presencia de tubo germinativo) y el total de conidios, en 10 campos ópticos por réplica. Se registró diferencias significativas entre los tres tiempos de exposición, presentando una germinación final de 89,7 % a las 6 horas de exposición; 80,3 % a las 12 horas de exposición y 67,0 % a las 24 horas de exposición.

Palabras clave: *Beauveria bassiana*, conidios germinados, tubo germinativo, UV – C, Agar Papa Dextrosa.

Abstract

The effect of different UV - C ultraviolet light exposure times on the growth of *Beauveria bassiana*, native strain of Lambayeque, was evaluated. The Saboraud broth medium was used for the reactivation and resuspension of the strain at a concentration of 3×10^2 spores/mL. The Petri dishes with Papa Dextrose Agar were seeded with 100 μ L of the already standardized inoculum indicated above, the plates were exposed to the lamp that emits ultraviolet radiation with a wavelength of 254 nm. The exposure time of the plates was: 6 hours; 12 hours and 24 hours, using a microscope with the objective of 40X, the germinated conidia were read (as indicator: presence of germinative tube) and the total of conidia, in 10 optical fields per replica. There were significant differences between the three exposure times, presenting a final germination of 89.7% at 6 hours of exposure; 80.3% at 12 hours of exposure and 67.0% at 24 hours of exposure.

Key words: *Beauveria bassiana*, germinated conidia, germ tube, UV - C, Papa Dextrose Agar.

¹ Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Av. Juan XXIII 391, Lambayeque – Perú.

alonzo199616@gmail.com
nina706grecia@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El uso de plaguicidas se ha incrementado considerablemente a lo largo de los últimos 35 años, alcanzando tasas de crecimiento del 4 al 5,4 % en algunas regiones. En los años noventa se apreció una disminución del uso de insecticidas, tanto en países desarrollados, como Francia, Alemania y el Reino Unido, como en unos cuantos países en desarrollo, como la India. En contraste, el uso de herbicidas continuó aumentando en la mayoría de los países (Departamento Económico y Social, 2017).

En el 2015, del total de casos notificados han sido confirmados el 99,0% por intoxicación aguda por plaguicidas mediante el diagnóstico clínico más el antecedente epidemiológico de haber estado expuesto a un plaguicida (NAYHUA, 2014).

Actualmente en la agricultura se hace hincapié en el uso de productos más amigables con el ambiente y la salud humana. En ese sentido, los microorganismos entomopatógenos constituyen una herramienta importante para el manejo integrado de plagas. Tal es el caso de los hongos entomopatógenos que poseen gran potencial como agentes controladores de poblaciones de artrópodos. Entre los géneros más importantes están: *Beauveria*,

Metarhizium, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Rhizopus* y *Fusarium*. Dentro de estas, la especie más comercial en el mundo es *Beauveria bassiana* por los resultados favorables que ha mostrado en el control de insectos plagas de diferentes cultivos (INTAGRI, 2010).

La persistencia de los conidios de los hongos entomopatógenos en campo, es afectada principalmente por la radiación ultravioleta proveniente del sol.

Por ejemplo, de acuerdo con los estudios realizados por Moore la germinación de conidios de *Metarhizium anisopliae* expuestos a la radiación solar disminuyó su viabilidad a la mitad después de dos horas de exposición (GRIJALBA, 2009).

Debido a la necesidad de obtener patógenos más eficaces para el control de insectos en el campo, se ha utilizado la inducción de mutaciones de hongos por acción de la luz ultravioleta, como una técnica para el mejoramiento genético de estos microorganismos (VILAS, PACCOLA, & LUNA, 1992).

Aun cuando existen aislamientos sensibles a dosis altas de radiación, las cuales provocan la mortalidad total de las esporas, todos los aislamientos responden de manera distinta a este efecto. Esta investigación se enfocará en evaluar el

crecimiento de *Beauveria bassiana* frente a la radiación ultravioleta dado que en campo este actúa como uno de los

factores limitantes, puesto que como biocontrolador es de vital importancia tanto para agricultores y el ambiente.

METODOLOGÍA

La población estuvo conformada por hongos entomopatógenos y la muestra fue *Beauveria bassiana* (cepa Lambayecana). Se realizó la investigación bajo un diseño de estímulo creciente, con tres tratamientos, cinco repeticiones con un total de quince unidades experimentales, el cual determinó el tiempo óptimo de exposición a UV-C para que *B. bassiana* tenga un mejor crecimiento.

Reactivación de *Beauveria bassiana*

La cepa se reactivó con Caldo Saboraud y se dejó reposar por 3 días a temperatura ambiente.

Preparación y estandarización del inóculo fúngico

Fueron resuspendidas en caldo Saboraud, y se llevó a una concentración de 3×10^2 esporas/ml.

Inoculación en placas

Las placas con Agar Papa Dextrosa (PDA) fueron inoculadas con 100 μ l (0.1 mL) del inóculo ya estandarizado señalado anteriormente, diseminándose

en toda la superficie del medio con la ayuda de una espátula de Drigalsky esterilizada.

Dejamos reposar durante 10 minutos antes de ser sometidos a la Radiación Ultravioleta (Uv-C).

Exposición a la radiación ultravioleta

Como fuente de luz ultravioleta se utilizó la lámpara Sylvania modelo T8G30 con una longitud de 254 nm, las placas fueron expuestas a una distancia de 50 cm de la lámpara.

El tiempo de exposición de las placas fue de: 6 horas, 12 horas y 24 horas (GRIJALBA, 2009), con cinco repeticiones cada tiempo y a la vez cinco repeticiones de nuestro grupo control (placas sin exposición a Uv-C).

Evaluación de germinación de esporas

Las placas se incubaron durante 24 horas a temperatura ambiente (25 °C), tiempo después, se cortó un cuadrado de agar de 1 cm² que se colocó sobre una lámina portaobjetos.

Sobre el agar se adicionó una gota de azul de algodón y posteriormente, utilizando un microscopio con ocular de 16 y objetivo de 40X, se realizó la lectura de

las esporas germinadas (como indicador: presencia de tubo germinativo) y sin germinar, en 10 campos ópticos por réplica (AGAPITO, 2009)

RESULTADOS

Análisis estadístico

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) comparándose los promedios de porcentaje de germinación, mediante el análisis de Tukey ($p < 0.05$), se utilizó el programa estadístico SPSS versión 22 (2013). El crecimiento de *B. bassiana* se determinó con el porcentaje de germinación:

$$\frac{\text{N}^\circ \text{ de conidias germinadas}}{\text{N}^\circ \text{ total de conidias}} \times 100$$
, contando el número de conidios germinados y el número total de conidios, en cada uno de los tratamientos.

El análisis de varianza para *B. bassiana* sometida a la radiación ultravioleta mostró diferencias significativas entre los tiempos expuestos ($p = 0,000$) a radiación ultravioleta a 6 horas, 12 horas y 24 horas. Presentaron una germinación final de 89,7 % a las 6 horas de exposición; 80,3 % a las 12 horas de exposición y 67,0 % a las 24 horas de exposición (Tabla 1).

Tabla 1:
Análisis de Tukey

Horas	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
24	5	67.000		
12	5		80.380	
6	5			89.720
Sig.		1.000	1.000	1.000

DISCUSIÓN

Los conidios de *B. bassiana* muestran susceptibilidad a la radiación UV - C, que aumentó directamente con el tiempo de exposición, lo que se evidenció por una

reducción significativa de la germinación. La reducción de la germinación posiblemente se debió a que la longitud de onda empleada, interfirió

con la replicación normal del ADN, superó los mecanismos de reparación de la célula y produjo mutaciones o la muerte celular dependiendo de la cantidad de energía recibida (CERDA-OLMEDO, ROJAS, & CUBERO, 1996). Resultados similares fueron obtenidos en

géneros de los hongos entomopatógenos *Metarhizium sp.*, *Beauveria sp.* y *Nomuraea sp.* expuestos a radiación UV - C redujeron su germinación conforme aumentó el tiempo de exposición a la misma (VILAS,1992).

CONCLUSIÓN

Su mejor tiempo de exposición a luz ultravioleta es de 6 horas por presentar mayor porcentaje de germinación (Figura.1). Los conidios de *B. bassiana*, redujeron significativamente su germinación después de las tres primeras horas de exposición, presentando una

germinación final del 42,7% a las 24 horas de exposición (GRIJALBA,2009).Esto nos permite concluir que nuestra cepa nativa es más resistente que otras cepas comerciales estandarizadas

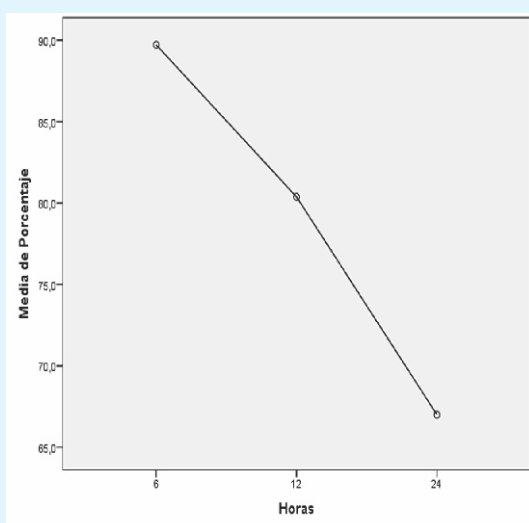


Figura 1: Porcentaje de crecimiento de conidios de *Beauveria bassiana* a diferentes horas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGAPITO, F. (28 de Septiembre de 2009). Evaluación in vitro de hongos

entomopatógenos como agentes potenciales para el control de

- Dysdercus peruvianus* Guérin-Méneville 1831 (Hemiptera: Pirrhocoridae) plaga de cultivo del algodón. Lima, Perú.
- CERDA-OLMEDO, E., ROJAS, M., & CUBERO, B. (1996). Causes of cell death following ultraviolet B and C exposures and the role of carotenes. . *Photochemical Photobiology*, 547-551.
- Departamento Económico y Social. (12 de Agosto de 2017). Obtenido de Depósito de documentos de la FAO: <http://www.fao.org/docrep/004/Y3557S/y3557s11.htm>
- GRIJALBA, E. P. (2009). Evaluación de la estabilidad de *Paecilomyces* sp. y *Beauveria bassiana*. *Revista Colombiana de Entomología*, 1,3,4.
- INTAGRI. (08 de Septiembre de 2010). *INTAGRI*. Obtenido de <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/beauveria-bassiana-en-el-control-biologico-de-patogenos>
- MOORE, D., BRIDGE, P. D., HIGGINS, P., BATEMAN, R., & PRIOR, C. (1993). Ultra-violet radiation damage to *Metarhizium flavoviride* conidia and the protection given by vegetable and mineral oils and chemical sunscreens. *Annuary of Applied Biology*.
- NAYHUA, L. (31 de Agosto de 2014). Boletín Epidemiológico. Lima , Lima, Perú: Dirección General de Epidemiología.
- VILAS, PACCOLA, & LUNA. (1992). Desenvolvimiento e aperfeicoamento de inseticidas biológicos para o controle de pragas. *Cenicafé*, 749 - 761.