

METODOLOGÍA PARA LA REPRODUCCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LOS HONGOS ENTOMOPATÓGENOS UTILIZADOS PARA EL CONTROL DE PLAGAS EN EL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR.

Alejandro Rodríguez M. y Carlos E. Sáenz A.

Dirección de investigación y extensión de la caña de azúcar (DIECA-LAICA) 1/.

La técnica se basa en la utilización de muestras de material inicial renovado de los hongos *Metarhizium anisopliae* (METCH.) SOROK o *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. obtenido directamente del campo, o revigorizado en el laboratorio. Se lleva a cabo a continuación su aislamiento y purificación *in vitro*, utilizando para ello placas Petri conteniendo medio de cultivo PDA (38 g/L) y extracto de levadura (5g/L). Una vez hecha la inoculación, las placas se sellan y colocan en una cámara de germinación o incubador a una temperatura de 22 °C por espacio de 8 días. Dichas placas una vez esporuladas proporcionarán el material para las siguientes etapas. A continuación se preparan las "Matrices" o botellas de cultivo de 1 L que contienen cerca de 200 g de arroz precocido previamente puesto en imbibición con agua destilada estéril. Al término de 15 días, las matrices han esporulado y están listas para servir de inóculo para el proceso de multiplicación en bolsas de polipropileno conteniendo 400 g de arroz precocido en el laboratorio. El hongo de las botellas se retira mediante el lavado del material con agua destilada estéril preparada con una concentración de 0,005% de surfactante. La inoculación se realiza introduciendo dentro de la bolsa, 20 ml de la suspensión que contiene en promedio $4,90 \times 10^9$ conidios (M.a.) y $7,10 \times 10^9$ conidios (B.b.). Las bolsas se incuban durante 15 días en salas a 24-26 °C. Para *B. bassiana*, las bolsas se abren y el material se coloca en bandejas con tapa hasta completar el período, teniendo el cuidado de abrirlas para dejar escapar la humedad que se acumula. Finalmente el material se seca por espacio de 8 días a una temperatura de 22-24 °C, y el hongo es separado mediante agitación en seco. Aunque los rendimientos son variables, se ha establecido un promedio de rendimiento de 5,16 y 3,88 gramos de conidios de *M. anisopliae* y *B. bassiana*, respectivamente. La concentración media por gramo de hongo puro es de $4,09 \times 10^{10}$ (M.a.) y $2,30 \times 10^{10}$ (B.b.) con una viabilidad del 93% y 61%, respectivamente. El almacenaje del hongo se lleva a cabo en cuartos acondicionados a una temperatura que oscila entre los 2 °C y 4 °C. La viabilidad del producto en almacenamiento es directamente proporcional a su contenido de humedad, por lo que el tiempo máximo para el almacenaje varía dependiendo de la presentación del producto. Antes de entregar el producto se debe evaluar su calidad, para lo cual se determina la viabilidad del mismo mediante la cuantificación de su germinación, además su vigor en términos de velocidad de parasitación de larvas L₃ de *D. saccharalis*, la concentración de conidios y finalmente la pureza del producto puro. Los requerimientos de eficiencia técnica mínimos para el producto se establecen de la siguiente forma:

Viabilidad	80%
Vigor	80%
Conidios / g. de producto puro	$4,09 \times 10^{10}$ (M.a.) y $2,30 \times 10^{10}$ (B.b.)
Pureza	98%

Utilizando esta metodología es posible obtener hongo de buena calidad con rendimientos aceptables, sin embargo, la calidad y cantidad puede aumentar mediante la aplicación de carbonato de calcio y y nitrógeno. Además, mediante la utilización de sustratos alternativos de menor costo, es posible obtener un fuerte ahorro por este concepto.

^{1/} **En: Participación de DIECA en el XI Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. San José, Costa Rica. LAICA-DIECA, julio. 1999. p:140.**