

## EFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA SALINIDAD SOBRE LA VIABILIDAD Y PRODUCCION DE CONIDIOS EN LOS HONGOS ENTOMOPATOGENOS *Tolypocladium cylindrosporum* y *Aphanocladium album* (Deuteromycotina. Hyphomycetes).\*

Claudia Cristina López Lastra.\*, Juan José García. & Guillermo Raúl Reboledo.

\*Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores.  
Calle 2 no 584 (1900) La Plata. República Argentina

**Palabras clave :** Hongos entomopatógenos, producción de conidios, temperatura, salinidad, *Tolypocladium cylindrosporum*, *Aphanocladium album*

**Key words :** Entomopathogenic fungi, conidial production, temperature, salinity, *Tolypocladium cylindrosporum*, *Aphanocladium album*.

### RESUMEN

Dos cepas antárticas de Hongos entomopatógenos, de *Tolypocladium cylindrosporum* y *Aphanocladium album*, aislados de mosquitos, fueron examinados para observar su respuesta frente a rangos de temperatura y salinidad, en la producción y viabilidad de propágulos de dispersión.

Los dos hongos exhibieron una amplia gama de tolerancia a la temperatura (5-35°C) y salinidad (0-7% NaCl), mostrando algunas variaciones en cada caso.

### INTRODUCCION

*Tolypocladium cylindrosporum* Gams, es un hongo saprófito de suelos, que ha sido citado también como patógeno de larvas de culicidos (Soares et al., 1979; Weiser y Pillai, 1982). *Aphanocladium album*

### SUMMARY

[Effect of temperature and salinity on the viability and conidia production in entomopathogenic fungi *Tolypocladium cylindrosporum* and *Aphanocladium album* (Deuteromycotina. Hyphomycetes)]

Effect of temperature and salinity on the germination and conidial production on entomopathogenic fungi: *Tolypocladium cylindrosporum* and *Aphanocladium album* (Deuteromycotina-Hyphomycetes) were examined.

The antarctic strain of these fungi isolated from mosquitoes, were examined with regard to its response to temperature and salinity. These fungi exhibited a wide range of tolerance to temperature (5-35°C) and salinity (0-7% NaCl), showing some variations in each case.

(Preuss) Gams, es también una especie saprófita en suelos y restos vegetales, que recientemente ha sido aislada a partir de adultos de culicidos (López Lastra, 1990). Una serie de experiencias con 3 aislamientos de *Tolypocladium cylindrosporum*, procedentes de California, Checoslovaquia y Nueva Zelanda, fueron realizadas por Gardner & Pillai, 1986 y Soares &

Pinnock 1984, en los que se consideró su comportamiento frente a variaciones de temperatura y salinidad.

En el presente trabajo se contribuye con la caracterización de un nuevo aislamiento de *T. cylindrosporium*, de suelo antártico, comprobadamente patógeno para larvas de culicidos, complementando de esta manera los estudios previos sobre esta especie.

Para *A. album* ésta es la primera caracterización de su crecimiento y viabilidad conidial frente a variaciones de temperatura y salinidad.

En este trabajo se dan a conocer los resultados de la viabilidad y producción de conidios de ambas cepas en medios de cultivo artificiales, bajo condiciones variables de temperatura y salinidad.

## MATERIAL Y METODOS

Cultivos de *T. cylindrosporium* aislado de suelo de la Antártida en 1986, cultivo (LPS N° 42), patógeno para larvas de mosquitos (López Lastra et al., 1991) y *A. album* aislado a partir de adultos de *Aedes albifasciatus* (Diptera, Culicidae) de Punta Lara, Provincia Buenos Aires, Argentina, en 1987 (cultivo LPS N° 89), fueron empleados para evaluar la producción y germinación de los conidios a distintas temperaturas y salinidades.

### A. Preparación del inóculo.

Para ambas especies fúngicas se procedió de igual forma en lo que respecta a metodología.

Para la obtención de conidios que sirvieron de inóculo, los hongos se sembraron en medio de cultivo Sabouraud dextrosa agar con extracto de levadura (SDA-Y) en cápsulas de Petri que se expusieron a 25°C durante 10 días. La composición del medio SDA-Y es: Neopeptona 10 g., dextrosa 40 g., agar-agar 15 g., extracto de levadura 2 g. y agua destilada: 1000 ml.

Los conidios se extrajeron de la superficie del cultivo con un pincel de pelo de mara esterilizado y con ellos se preparó una suspensión en agua destilada. La suspensión fue homogenizada por agitación durante 10 minutos.

La producción de conidios de cada cápsula se estimó cuantificando el número de conidios por mililitro mediante el uso de una cámara de Neubauer.

### B. Respuestas del crecimiento a distintas temperatu-

### ras: viabilidad y producción de conidios.

La viabilidad de los conidios de ambas cepas se determinó calculando el porcentaje de germinación de los conidios. Se inoculó 1 ml. de suspensión de conidios ( $1 \times 10^4$  conidios/ml) en la superficie de tres cápsulas de Petri conteniendo SDA-Y, mediante un ansa de Drigalsky. Las cápsulas se incubaron a 5, 10, 15, 20, 25, 28, 30 y 35°C. durante 24 horas. Se consideraron conidios viables a aquellos en los cuales se observó la producción de tubos germinativos al microscopio con contraste de fase. Se contaron 200 conidios por cápsula. Cada tratamiento se repitió tres veces con tres réplicas de cada uno.

### C. Respuestas del crecimiento a distintos porcentajes de salinidad: viabilidad y producción de conidios.

Se estimó el grado de tolerancia de ambas especies a distintas concentraciones salinas. Los rangos de salinidad se lograron incorporando diferentes concentraciones de cloruro de sodio al medio de cultivo SDA-Y: 0, 1,2,3,4,,5,6, y 7% de NaCl.

Se inoculó con 1 ml de la suspensión ( $1 \times 10^4$  conidios/ml) en la superficie de la cápsula conteniendo medio de cultivo. Dispersándose con ansa de Drigalsky. Los cultivos se incubaron a 25°C durante 24 horas para estimar la viabilidad de estos durante 10 días, para calcular la producción. Cada tratamiento se realizó tres veces con tres réplicas cada uno.

## RESULTADOS Y DISCUSION

La germinación de los conidios en *T. cylindrosporium*, ocurrió entre 5 y 35°C, con un óptimo a 25°C en que se observó un 45-49% de germinación (Fig.1).

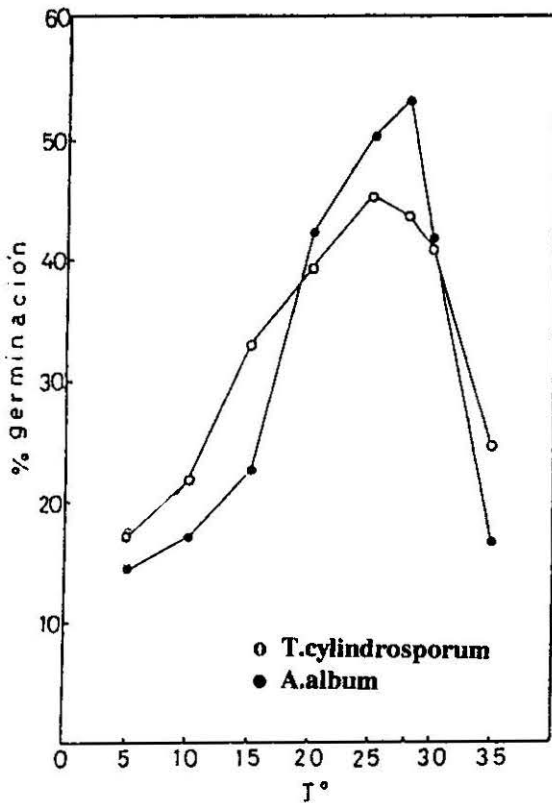
La producción de conidios fue relativamente alta entre 15°C y 30°C, con un óptimo de  $9.7 \times 10^8$  conidios/ml a 28°C (Fig.2).

Con respecto a la salinidad se observaron valores decrecientes en los porcentajes de germinación de conidios a medida que se incrementó la concentración de NaCl. (Fig. 3). Los valores de producción fueron elevados entre 0 y 5% de NaCl.

La germinación de conidios de *A. album* fue observada entre 5 y 35°C, con un óptimo a 28°C y 53.41% de germinación (Fig.1).

Los niveles de germinación fueron sensiblemente inferiores a temperaturas de 5,10,15 y 35°C. La producción alcanzó un óptimo a 25°C con  $8.1 \times 10^8$  conidios/ml y sólo disminuyó notablemente con temperaturas más elevadas de 30 y 35°C (Fig.2).

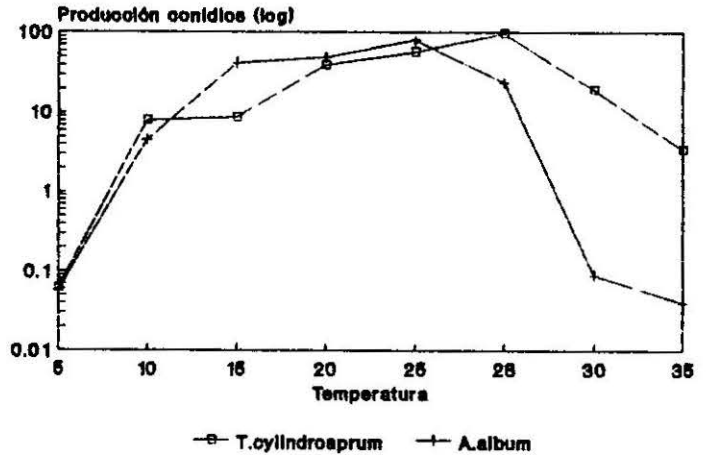
Figura 1  
Porcentaje de germinación de conidios en relación a variaciones de temperaturas



El incremento de la concentración de NaCl produjo un descenso en los porcentajes de germinación, la producción en cambio, aunque decreciente, se mantuvo a niveles altos entre 0 y 4% de NaCl. (Fig.4).

Los valores de producción y germinación de conidios de *T. cylindrosporum* y *A. album* expuestos a distintas temperaturas y salinidades, proporcionan una información importante acerca de la tolerancia de estos hongos patógenos de mosquitos a dichos parámetros. Ambas especies presentaron un amplio margen de tolerancia frente a la variación de temperatura y salinidad.

Figura 2  
Producción de conidios (con./ml) en relación a variaciones de temperatura (escala logarítmica)



Soares & Pinnock (1984) realizaron experiencias con un cultivo de *T. cylindrosporum* aislado de larvas de culicidos y observaron que la germinación de los conidios ocurría entre 12 y 30°C, pero no se observaba a valores de 8 y 35°C. Estudios similares realizados por Gardner & Pillai (1986) con tres aislamientos de *T. cylindrosporum* procedentes de Nueva Zelanda (NZ), Europa (EU) y California (CAL), demostraron que la germinación y la producción más elevada se obtenían entre 15 y 30°C, con un óptimo entre 20 y 30°C. En cuanto al aislamiento de (NZ) fue muy tolerante a las condiciones salinas con un óptimo entre 0 y 2% de NaCl. y tolerancia hasta 7% de NaCl; el de (CAL) también exhibió un amplio margen de tolerancia a condiciones salinas y el de (EU) estuvo severamente inhibido a niveles mayores de 2% de NaCl.

*Culicinomyces clavissporus* Couch, Romney & Rao (Deuteromycotina, Hyphomycetes), es también un hongo patógeno de mosquitos y fue estudiado en relación a su tolerancia a diferentes temperaturas y salinidades (Sweeney, 1978 a,b) obteniendo un nivel óptimo de germinación y producción a 30°C. En cuanto a la salinidad el porcentaje de germinación de los conidios descendió con el incremento de la concentración salina, observándose que crecía y germinaba mejor sin adición de sal.

Tomando como base los resultados previamente expuestos y comparándolos con los de otros autores ya citados, observamos que el aislamiento de *T. cylindro-*

sporum de la Antártida mostró, una tolerancia similar al de Nueva Zelandia y a *C. clavisporus*, mientras que el de *A. album* fue el más tolerante a temperaturas elevadas.

Figura 3

Porcentaje de germinación de conidios en relación a variaciones de salinidad.

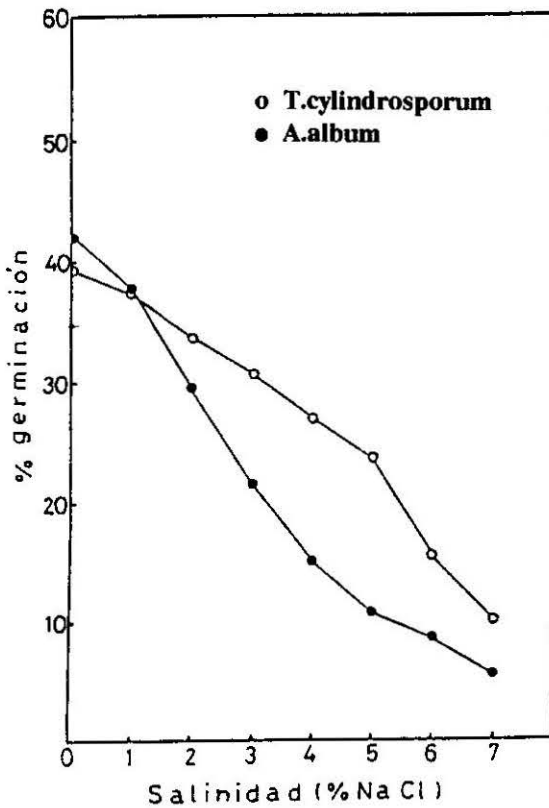
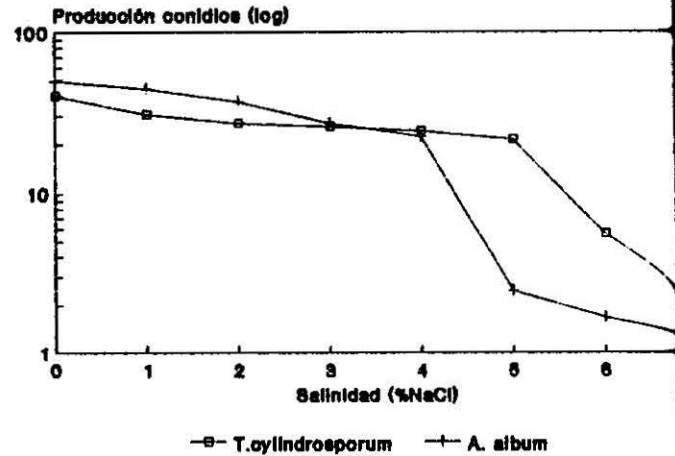


Figura 4

Producción de conidios (con./ml) en relación a variaciones de salinidad (escala logarítmica)



Podemos considerar que tanto *T. cylindrosporum* como *A. album* presentan un amplio margen de tolerancia a condiciones de temperatura y salinidad. Estos constituyen una fuente de datos para la obtención de una producción masiva de los hongos así como también para conocer las condiciones óptimas de crecimiento de estos patógenos de culicidos, ya que estos insectos habitan en una amplia diversidad de ambientes.

La capacidad de estas y otras especies fúngicas como agentes de control de larvas de mosquitos, bajo estos parámetros, debe ser considerada en relación a la diversidad de ambientes en que se desarrollan en forma natural dichos hospedadores.

#### Agradecimientos

A la Dra. Gamundí de Amos y al Dr. Ronderos, R. por la lectura crítica del manuscrito.

REFERENCIAS

- Gardner, J. M. & Pillai, J. S. (1986). *Tolyposcladium cylindrosporium* (Deuteromycotina-Moniliales), a fungal pathogen of the mosquito *Aedes australis*. I. Influence of temperature, pH and salinity on growth and sporulation of the fungus in laboratory. *Mycopathologia* 96 : 87-90.
- Lopez Lastra, C.C. (1990). Primer registro de *Aphanocladium album* (Deuteromycotina-Hyphomycetes) como patógeno de insectos en la República Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 26 : 259-261.
- , Reboredo, G.R. & Spinedi, H.A. (1991). Primer registro de *Tolyposcladium cylindrosporium* Gams, (Deuteromycotina-Hyphomycetes) para la Antártida. Consideraciones preliminares sobre su patogenicidad en larvas *Culex pipiens* L. (Diptera-Culicidae). *Contribución I.A.A. No 392* pp 1-11
- Soares, G.G. Jr. & Pinnock, D.E. (1984). Effect of temperature on germination, growth and infectivity on the mosquito pathogen *Tolyposcladium cylindrosporium* (Deuteromycotina-Hyphomycetes). *Jour. of Invert. Pathol.* 43 : 242-247.
- , Pinnock D.E. & Samson, R.A. (1979). *Tolyposcladium*, a new fungal pathogen of mosquito larvae with promise for use in microbial control. *Proc. Calif. Mosq. Control Assoc.* 47 : 51-54.
- Sweeney, A. W. (1978 a). The effects of temperature on the Mosquito Pathogenic Fungus *Culicinomyces*. *Austr. Jour. Zool.* 26 : 47-53.
- (1978 b). The effects of salinity on the Mosquito Pathogenic Fungus *Culicinomyces*. *Austr. Jour. Zool.* 26 : 55-59.
- Weisser, J. & Pillai, J.S. (1982). *Tolyposcladium cylindrosporium* (Deuteromycetes-Moniliales) a new pathogen of mosquito larvae. *Entomophaga.* 26 : 357-361.