

PRINCIPALES ÁCAROS ENCONTRADOS EN LABORATORIOS COMERCIALES DE CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES Y SU ASOCIACIÓN CON HONGOS EN EL VALLE CENTRAL DE COSTA RICA

Pamela Murillo-Rojas^{1/*}, Hugo Aguilar-Piedra²

Palabras clave: Contaminantes in vitro plantas; ácaros in vitro; *Tyrophagus putrescentiae*; *Siteroptes reniformis*; *Tarsonemus bilobatus*; *Tarsonemus fusarii*.

Keywords: Vitro plants contaminants; in vitro mites; *Tyrophagus putrescentiae*; *Siteroptes reniformis*; *Tarsonemus bilobatus*; *Tarsonemus fusarii*.

Recibido: 12/03/2020

Aceptado: 26/05/2020

RESUMEN

Introducción. Los laboratorios dedicados a la producción in vitro de plantas ven afectado su trabajo, debido a la aparición de contaminantes fúngicos o bacterias en los explantes, situación asociada a la presencia de plagas artrópodos como los ácaros. **Objetivo.** Identificar las principales especies de ácaros y la asociación de estos organismos con contaminantes, como los hongos en diferentes laboratorios comerciales de cultivo de tejidos vegetales en el Valle Central de Costa Rica. **Materiales y métodos.** Muestras de vitro plantas, provenientes de diversos laboratorios, con problemas de contaminación, causados por ácaros fueron llevados al Laboratorio de Acarología de la Universidad de Costa Rica para la respectiva identificación de los ácaros y los hongos asociados a estos artrópodos. Se comprobó la presencia de los ácaros en los explantes y se identificaron con la ayuda de las claves taxonómicas respectivas. Los hongos asociados con los

ABSTRACT

Principal mites found in commercial laboratories of plant tissue cultures and their association with fungi in the Central Valley of Costa Rica. Introduction. Laboratories dedicated to the in vitro production of plants experienced an affectation in their work, due to the presence of fungal contaminants or bacteria on the explants, a situation associated with the presence of arthropod pests such as mites. **Objective.** To identify the major species of mites and the association of these organisms with contaminants such as fungi in different commercial plant tissue culture laboratories in the Central Valley of Costa Rica. **Materials and methods.** Vitro plant samples, from various laboratories, with contamination problems caused by mites were taken to the Acarology Laboratory of the University of Costa Rica, for the respective identification of the mites and fungi associated with these arthropods.

* Autora para correspondencia. Correo electrónico: pamela.murillorojas@ucr.ac.cr

1 Universidad de Costa Rica, Laboratorio de Acarología, Centro de Investigación en Protección de Cultivos (CIPROC), San José, Costa Rica.

 0000-0002-7823-7302.

2 Universidad de Costa Rica, Laboratorio de Acarología, Centro de Investigación en Protección de Cultivos (CIPROC), San José, Costa Rica.

 0000-0003-3335-7439.

ácaros se aislaron en medio de cultivo PDA y se identificaron con ayuda de claves taxonómicas especializadas. **Resultados.** Los ácaros encontrados fueron identificados como *Siteroptes reniformis*, *Tyrophagus putrescentiae*, *Tarsonemus bilobatus* y *T. fusarii*. Se encontró como principal especie a *T. putrescentiae* (76% de las muestras analizadas). Los hongos *Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Leptosphaerulina* sp. y *Cladosporium* sp. se hallaron asociados con el ácaro *T. putrescentiae*, mientras que *Nigrospora oryzae* fue el único hongo relacionado con el ácaro *S. reniformis*. **Conclusiones.** Los ácaros están asociados con uno o varios hongos según la especie encontrada. Todas las especies de ácaros tienen la capacidad de diseminar las hifas o esporas de los hongos, ya sea acarreándolas sobre la superficie de su cuerpo o por medio de estructuras especializadas. Un aumento en los niveles de contaminación de los explantes cultivados in vitro, podría estar asociado con la presencia de ácaros.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de vitro plantas es una técnica comúnmente utilizada en la agricultura para propagar material vegetal de alta calidad agronómica, el cual, a su vez, debe estar libre de plagas y enfermedades, principalmente de virus. De esta forma, los laboratorios dedicados a la producción in vitro seleccionan y producen plantas en masa a las que se les proporciona las condiciones necesarias de luz y nutrientes para su desarrollo. Una vez listas las plantas, se aclimatan y trasladan al campo para ser cultivadas (Roca y Mroginski 1993, Sriskandarajah 2006, Conger 2018). Esta técnica se ha vuelto esencial para la reproducción de plantas por parte de varias empresas agrícolas dedicadas a la producción de raíces, tubérculos, frutas como piña y banano, forestales y ornamentales, lo cual aumenta las

The presence of mites on the explants was verified and they were identified with the respective taxonomic keys. Fungi associated with the mites were isolated in PDA culture medium and identified with the help of specialized taxonomic keys. **Results.** Mites found were identified as *Siteroptes reniformis*, *Tyrophagus putrescentiae*, *Tarsonemus bilobatus* and *T. fusarii*. *Tyrophagus putrescentiae* was the major contaminant species (76% of the analyzed samples). Fungi *Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Leptosphaerulina* sp., and *Cladosporium* sp., were linked to the species *T. putrescentiae*, whereas *Nigrospora oryzae* was the only fungus found with *S. reniformis*. **Conclusions.** Mites are associated with one or more fungi depending on the species found. All mite species have the ability to spread fungal hyphae or spores, either by carrying them onto the surface of their body or through specialized structures. An increase in the levels of contamination of the in vitro cultured explants could be associated with the presence of mites.

exportaciones de vitro plantas desde Costa Rica hacia países como Tailandia, Estados Unidos, México, Venezuela, Chile, algunos países de Centroamérica y de Europa (Cabezas 2006, El Financiero 2016, Summa 2016, Agribio 2019, Agrovitro 2019).

El cultivo de tejidos vegetales se realiza en un medio artificial con condiciones asépticas (Leifert *et al.* 1991, Loyola-Vargas y Ochoa-Alejo 2018), las cuales se alcanzan mediante el empleo de protocolos de desinfección del material a introducir, conocido como explante, así como la realización de rutinas de limpieza en las instalaciones, para así, evitar el ingreso de contaminantes ambientales a los frascos donde crecen las plantas (Cassells 2000, Sriskandarajah 2006). Durante la etapa de establecimiento, el material vegetal es considerado la principal fuente de contaminación, debido a la presencia endógena

y exógena de hongos, levaduras y bacterias, los cuales se pueden desarrollar en los medios de cultivo, especialmente durante los primeros 2 meses. Sin embargo, posterior a este tiempo, los explantes pueden presentar contaminantes provenientes del ambiente o debido a la manipulación de los cultivos dentro del laboratorio (Cassells 1991, Leifert *et al.* 1994, Leifert y Cassells 2001, Odutayo *et al.* 2007, González y Hernández 2010, Cassells 2012).

A pesar de que se toman varias medidas para evitar contaminación en las plantas cultivadas *in vitro*, la presencia de microorganismos causa grandes pérdidas en la producción, las cuales pueden ir desde un 3% hasta un 55% (Boxus y Terzi 1987, Leifert *et al.* 1994, Gamburg y Phillips 1995). Así, aquellos laboratorios que presentan altos niveles de contaminación deben realizar diariamente control de calidad de los frascos en los cuartos de crecimiento, lo cual conlleva a un aumento significativo en los costos de producción, ya que esta práctica demanda gran cantidad de tiempo del personal que trabaja en los laboratorios (Fontúrbel 2001, González y Hernández 2010). Asimismo, estas empresas deben diseñar estrategias de desinfección y combate más efectivas en el manejo de contaminantes lo cual encarecería aún más sus costos.

Muchas veces la aparición súbita y exponencial de contaminantes, fúngicos o bacterias en los explantes, está asociada con la presencia de plagas artrópodas, como los ácaros, quienes están estrechamente relacionados a estos microorganismos debido a que en la mayoría de los casos, se alimentan de los hongos que crecen dentro de los frascos (Jong 1987, Pye *et al.* 1997, Hubert *et al.* 2003, Sriskandarajah 2006, González y Hernández 2010).

Las infestaciones de estos artrópodos son difíciles de manejar, al ser organismos microscópicos con alta capacidad para ingresar o salir de los frascos y de difícil detección. Una vez que los ácaros llegan al laboratorio, pueden migrar de un frasco a otro y distribuirse fácilmente; por esta razón, son considerados una plaga en cultivo de tejidos de plantas, pues ocasionan pérdidas en la

producción (Pye *et al.* 1997, Duek *et al.* 2001). Aunque los ácaros usualmente causan un daño mínimo a los explantes, conforme estos migran pueden transportar en su cuerpo bacterias y esporas de hongos a nuevos sustratos (Pye *et al.* 1997, Hubert *et al.* 2004), que crecen en el medio de cultivo y son tomados por el ácaro como fuente de alimento.

Los laboratorios de cultivo *in vitro* han realizado esfuerzos por mantener bajos los niveles de contaminación; sin embargo, varias personas autoras mencionan que el 50% de los laboratorios han tenido problemas de contaminación en algún momento a causa de los ácaros y, en otros casos, han causado pérdidas totales del material vegetal (Blake 1988, Pye *et al.* 1997, Van Epenhuijsen y Koolaard 2004a).

Actualmente, las empresas cuentan con pocas herramientas para enfrentar esta problemática, pues no se han estudiado estos organismos bajo condiciones *in vitro*. En la mayoría de los casos, el manejo se efectúa al descartar los frascos infestados y por medio de fumigaciones con acaricidas en el laboratorio (West y Preece 2006). Para el manejo de los ácaros, hongos y bacterias asociados como contaminantes, es necesario realizar una adecuada identificación de las especies involucradas y estudiar las interacciones que ocurren entre estos organismos, ya que algunos ácaros requieren de especies de hongos específicas para su sobrevivencia.

Según el incremento de problemas ocasionados por los ácaros bajo condiciones *in vitro* en el país, su difícil detección y escasa información, se identificaron las principales especies de ácaros encontrados en algunos laboratorios comerciales de cultivo de tejidos vegetales del Valle Central.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección e identificación de ácaros.

Debido a la presencia súbita de microorganismos como hongos y bacterias en los medios de cultivo, de 7 laboratorios ubicados en el Valle Central del país (Tabla 1), los cuales están dedicados a la producción *in vitro* de plantas, que fueron

recibidos en el Laboratorio de Acarología, se inició con la búsqueda de posibles artrópodos como los ácaros, que pudieran estar asociados con el incremento de contaminación percibido por estas empresas.

De acuerdo con la cantidad de material in vitro encontrado con contaminantes en cada laboratorio, se seleccionó una submuestra (de un 30% hasta un 50%), por lo que se recolectaron en total unos 600 frascos (9 x5 cm) con varios

tipos de vitro plantas. Dichas muestras contenían explantes de *Dieffenbachia* sp., *Spathiphyllum* sp., *Calathea* sp., *Ficus* sp., *Xanthosoma* sp., *Phalaenopsis* sp., *Anthurium* sp., *Musa acuminata* y *Dianthus caryophyllus* (Tabla 1). Los frascos se llevaron al Laboratorio de Acarología del Centro de Investigación en Protección de Cultivos de la Universidad de Costa Rica, donde se comprobó la presencia y frecuencia de estos artrópodos en las vitro plantas.

Tabla 1. Tipo de material vegetal, lugar de procedencia, número total de frascos procesados y fecha de recolección de las muestras provenientes de diferentes laboratorios de cultivo de tejidos.

Laboratorio	Material vegetal in vitro	Provincia de procedencia	Número de frascos	Fecha
1	<i>Spathiphyllum</i> sp.	Heredia	20	1/IX/05
1	<i>Anthurium</i> sp.	Heredia	15	1/IX/05
1	<i>Spathiphyllum</i> sp.	Heredia	12	19/X/05
1	<i>Spathiphyllum</i> sp.	Heredia	5	17/V/06
2	<i>Anthurium</i> sp.	Alajuela	30	19/X/05
2	<i>Dieffenbachia</i> sp.	Alajuela	41	16/XI/05
2	<i>Spathiphyllum</i> sp.	Alajuela	36	16/XI/05
2	<i>Calathea</i> sp.	Alajuela	5	16/XI/05
2	<i>Anthurium</i> sp.	Alajuela	23	28/II/06
2	<i>Dieffenbachia</i> sp.	Alajuela	15	8/III/06
2	<i>Anthurium</i> sp.	Alajuela	20	8/III/06
2	<i>Calathea</i> sp.	Alajuela	45	8/III/06
2	<i>Ficus elastica</i>	Alajuela	19	14/III/06
2	<i>Calathea</i> sp.	Alajuela	38	13/IX/06
2	<i>Anthurium</i> sp.	Alajuela	41	25/VIII/08
2	<i>Anthurium</i> sp.	Alajuela	24	12/XI/08
3	<i>Phalaenopsis</i> sp.	Alajuela	12	28/II/06
3	<i>Phalaenopsis</i> sp.	Alajuela	15	20/VII/06
3	<i>Phalaenopsis</i> sp.	Alajuela	30	29/VIII/07
4	<i>Xanthosoma</i> sp.	San José	5	21/XI/06
5	<i>Phalaenopsis</i> sp.	Alajuela	20	06/IX/08
5	<i>Phalaenopsis</i> sp.	Alajuela	15	13/IX/08
5	<i>Phalaenopsis</i> sp.	Alajuela	32	20/VII/10
5	<i>Phalaenopsis</i> sp.	Alajuela	10	07/VIII/10
5	<i>Phalaenopsis</i> sp.	Alajuela	12	21/I/11
5	<i>Phalaenopsis</i> sp.	Alajuela	25	23/VI/11
6	<i>Ficus eximia</i>	Heredia	10	20/IV/10
6	<i>Dianthus caryophyllus</i>	Heredia	5	20/IV/10
7	<i>Musa acuminata</i>	Cartago	20	31/V/10

El material se observó con ayuda de un estereoscopio marca Nikon modelo SMZ-645. Los ácaros encontrados fueron recolectados en un frasco con etanol al 70%. Una vez obtenidos los especímenes, se realizaron los montajes respectivos en portaobjetos con medio de Hoyer (Walter y Krantz 2009) y se cubrieron con cubreobjetos circulares (18mm); luego se colocaron en una estufa (40°C-45°C) por al menos 3 días. Finalmente, se procedió a sellar las láminas con barniz para pisos, poliuretano brillante.

Posteriormente, los ácaros se observaron bajo el microscopio de luz (Olympus BX51 con contraste de fases) y se realizaron los respectivos estudios taxonómicos para su identificación por medio de las claves taxonómicas de Hughes (1976), Fan y Zhang (2007) y Kaliszewski (1987).

El material identificado se encuentra depositado en la colección de referencia de ácaros de importancia agrícola en el Laboratorio de Acarología.

Identificación de los hongos. Se realizaron aislamientos de los hongos, encontrados en asociación, con los ácaros hallados en los frascos

provenientes de cada laboratorio. Los aislamientos se llevaron a cabo en una cámara de flujo laminar en el Laboratorio de Acarología.

Los hongos encontrados se cultivaron en cajas petri (100 mm x 15 mm) en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) acidificado. En cada plato se colocaron segmentos del micelio de cada hongo, los cuales se mantuvieron a temperatura ambiente (22°C-26°C) durante cuatro días para permitir que el micelio cubriera el medio de PDA. Luego, se procedió con la identificación morfológica de los hongos aislados por medio de las claves taxonómicas especializadas de Barnett y Hunter (1972).

RESULTADOS

Especies de ácaros encontradas y frecuencia de aparición. Los ácaros encontrados en los frascos fueron identificados como: *Siteroptes reniformis* Krantz (Acari: Siteroptidae) (Figura 1), *Tyrophagus putrescentiae* Schrank (Acari: Acaridae) (Figura 2), *Tarsonemus bilobatus* Suski (Figura 3A) y *T. fusarii* Cooreman (Acari: Tarsonemidae) (Figura 3B).



Figura 1. *Siteroptes reniformis* (A) en plantas in vitro; (B) en hojas de plantas in vitro; (C) vista dorsal de hembra.



Figura 2. *Tyrophagus putrescentiae* (A) en plantas in vitro; (B) alimentándose de hifas en frascos de cultivo de tejidos; (C) vista dorsal de hembra.

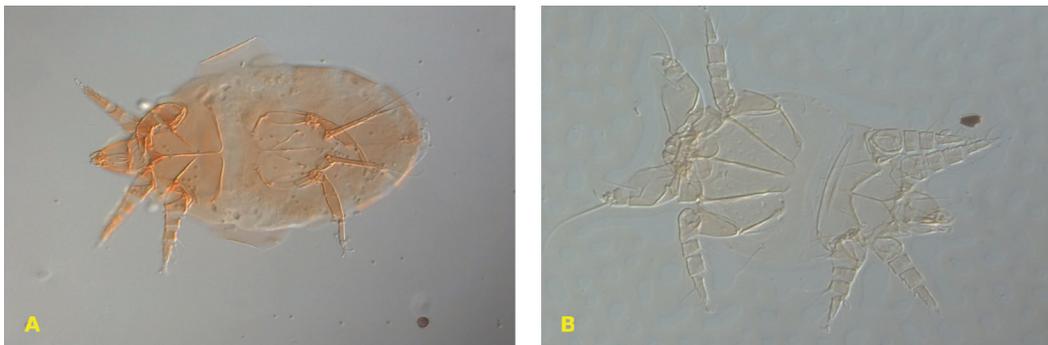


Figura 3. (A) Hembra de *Tarsonemus bilobatus* (vista ventral) (B) Macho de *Tarsonemus fusarii* (vista ventral).

Además, se comprobó que *T. putrescentiae* es la principal especie de ácaro encontrada en los laboratorios puesto que se halló en un 76% de las muestras analizadas (Figura 4). Asimismo,

se encontró la especie *S. reniformis* en un 16% de los frascos y, en menor frecuencia, las especies *T. bilobatus* y *T. fusarii*, ambas representadas en un 4% de las muestras.

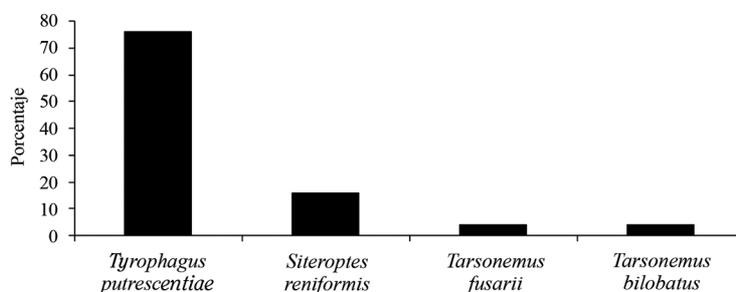


Figura 4. Proporción de ácaros encontrados in vitro plantas provenientes de 6 laboratorios de micropropagación.

Asociación de los ácaros con los hongos.

La mayor parte del material examinado en el laboratorio presentaba problemas de contaminación causado por hongos, los cuales se

desarrollaron principalmente sobre el medio de cultivo (Figura 5). Al observar los frascos al estereoscopio, también se encontró la presencia de ácaros asociados con los hongos.

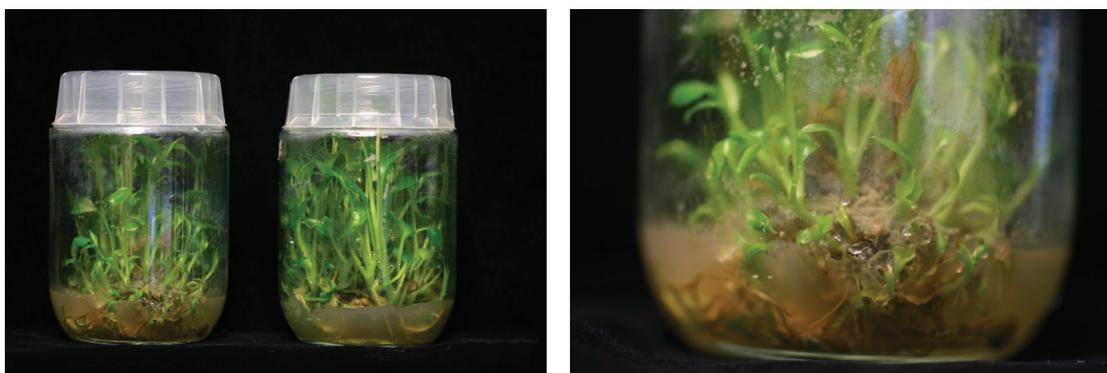


Figura 5. Plantas de *Anthurium* sp. cultivadas in vitro y contaminadas con hongos.

Los hongos encontrados y aislados de los explantes fueron identificados como *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Leptosphaerulina* spp. y *Cladosporium* spp., los cuales estuvieron relacionados con el ácaro *T. putrescentiae*; mientras que *Nigrospora oryzae* (Berk. & Broome) Petch fue el único hongo asociado con el ácaro *S. reniformis* (Tabla 2). Por otra

parte, se observó que esas especies de ácaros tienen la capacidad de transportar los hongos hasta un nuevo sustrato, ya sea al llevar las esporas sobre la superficie de su cuerpo, como en el caso de *T. putrescentiae* (Figura 6), o por medio de unas estructuras especializadas llamadas esporotecas (Figura 7), como en el caso de la especie *S. reniformis*.

Tabla 2. Principales ácaros encontrados en los diferentes laboratorios de cultivo de tejidos y su asociación con hongos.

Familia de ácaro	Especie	Hongo asociado
Acaridae	<i>Tyrophagus putrescentiae</i>	<i>Cladosporium</i> spp. <i>Penicillium</i> spp. <i>Leptosphaerulina</i> spp.
Siteroptidae	<i>Siteroptes reniformis</i>	<i>Nigrospora oryzae</i>

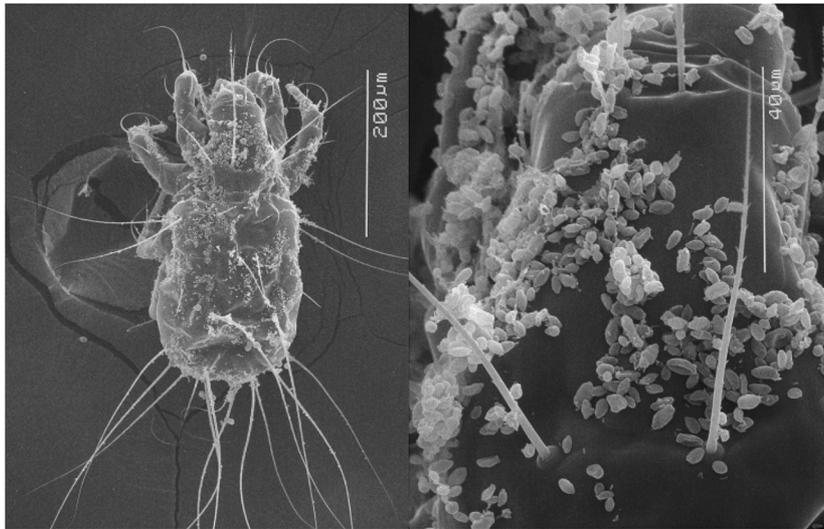


Figura 6. Transporte de las esporas de hongos sobre el cuerpo de *Tyrophagus putrescentie*.



Figura 7. Transporte de las esporas del hongo *Nigrospora oryzae* en las esporotecas de *Siteroptes reniformes*.

DISCUSIÓN

Las especies de ácaros, localizadas en los explantes de vitro plantas, fueron detectadas en la mayoría de los casos por parte del personal que trabaja en los laboratorios, al percibir un aumento en los niveles de contaminación causado principalmente por hongos. El medio de cultivo que se utiliza para la propagación de plantas en los laboratorios (alto en azúcares), así como las condiciones que se crean dentro de los frascos (alta humedad relativa y temperatura estable), conforman un ambiente propicio para la proliferación de microorganismos como hongos y bacterias; asimismo, para el establecimiento de artrópodos

pequeños como los ácaros (Blake 1988, Leifert y Cassells 2001, Cassells 2012).

Aunque la presencia de muchos de estos hongos a nivel de campo no representa un daño significativo para la planta, bajo condiciones in vitro (óptimas en nutrientes y azúcar), se desarrollan rápidamente y resultan letales para los explantes en un corto periodo de tiempo. En este caso, los microorganismos, que se desarrollan dentro de los frascos, contaminan el medio de cultivo y compiten con las plántulas, principalmente por espacio y nutrientes (Roca y Mroginski 1993, Leifert *et al.* 1994, Fontúrbel 2001, Odutayo *et al.* 2007, Kane *et al.* 2011). De esta

forma, los ácaros que ingresan a los frascos son los principales responsables de dispersar los hongos y bacterias de un lugar a otro, que disparan los niveles de contaminación en los laboratorios.

Durante esta investigación, se encontró a *T. putrescentiae* (Acari: Acaridae) y *S. reniformis* (Acari: Siteroptidae) como las principales especies recuperadas en los laboratorios del país (Figura 4), las cuales ocasionan pérdidas en la producción de vitro plantas. En otros países, estas 2 especies han sido reportadas como los principales contaminantes en laboratorios, así como las especies *Siteroptes graminis* Krczal, *S. avenae* Müller, *Tyrophagus neiswanderi* Johnston y Bruce, *T. perniciosus* Zachvatkin (Acari: Acaridae), *Tarsonemus bilobatus* Suski, *Phytonemus pallidus* Banks (Acari: Tarsonemidae), y algunos ácaros depredadores como *Amblyseius* sp. (Acari: Phytoseiidae) (Blake 1988, Vargas y Ochoa 1990, Pype *et al.* 1997, Van Epenhuijsen y Koolaard 2004b).

Se evidenció que estas 2 especies tienen una alta capacidad para diseminar hongos ya sea sobre la superficie del cuerpo o en las setas, como en el caso de *T. putrescentiae* (Figura 6), o al utilizar estructuras especializadas para el transporte de esporas (Figura 7), como en *S. reniformis* (Van Epenhuijsen y Koolaard 2004b, Terras *et al.* 1991), desde donde son distribuidas rápidamente en el sustrato y causan problemas de contaminación (Hughes 1976, Krantz y Lindquist 1979, Jong 1987, Abdel-Sater *et al.* 1995, Van Asselt 1999, Duek *et al.* 2001, Leifert y Cassells 2001, Hubert *et al.* 2004).

De estas 2 especies, *T. putrescentiae* no solo se encontró con mayor frecuencia en las muestras, sino que se vinculó con varios hongos (Tabla 2). Este ácaro usualmente opta por alimentos con un alto contenido en grasa y proteína como jamón, tocino, harina de trigo, queso, leche seca, semillas y otros productos almacenados (Hughes 1976, Flechtmann 1986, Van Asselt 1999, Duek *et al.* 2001, Zhang 2003, Fan y Zhang 2007, Erban *et al.* 2015, 2016, Rybanska *et al.* 2015, da Silva *et al.* 2018). Sin embargo, estos ácaros también pueden sobrevivir en sustratos

no tan ricos en grasas y se ha reportado que se alimentan de hifas y esporas de múltiples hongos (Terras *et al.* 1991, Hughes 1976, Abdel-Sater *et al.* 1995, Hubert *et al.* 2004, Murillo 2011, da Silva *et al.* 2019).

Así, en el presente trabajo se encontró a *T. putrescentiae* dentro de los frascos in vitro alimentándose de hongos como *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp., *Mucor* spp. y *Leptosphaerulina* spp., lo cual confirmó la gran plasticidad de esta especie. Varias personas autoras mencionan que esta plasticidad está relacionada con la presencia y actividad de lizoenzimas y bacterias en el tracto digestivo de este ácaro, lo que les permite sobrevivir en distintos sustratos (Duek *et al.* 2001, Smrž 2003, Hubert *et al.* 2004, Erban y Hubert 2008, Erban *et al.* 2016). Asimismo, Erban *et al.* (2016) encontraron que la microbiota presente en las poblaciones de *T. putrescentiae* influye con la capacidad de este ácaro para digerir alimentos.

El ácaro *Tyrophagus* juega un rol importante como contaminante en laboratorios de cultivo de tejidos, así como en colonias de insectos y hongos, al tener una gran capacidad para migrar y reproducirse (Krantz y Lindquist 1979, Jong 1987, Blake 1988, Smrž y Jungová 1989, Fan y Zhang 2007, Murillo 2011, Murillo *et al.* 2018, da Silva *et al.* 2019). Esta especie cosmopolita usualmente se introduce en los laboratorios por medio de material infestado, o logra ingresar por las aberturas de los frascos, donde la población se incrementa en pocos días al tener las condiciones propicias para su desarrollo (Jong 1987, Van Epenhuijsen y Koolaard 2004a, Murillo 2011, da Silva *et al.* 2018).

Además, de *T. putrescentiae*, se encontró en menor proporción la especie *S. reniformis* (Figura 4), la cual se alimenta exclusivamente del hongo *N. oryzae* (Tabla 2) (Aguilar *et al.* 2006). Los ácaros de este género, a diferencia de *Tyrophagus*, son estrictamente fungívoros y mantienen una relación simbiótica con la especie de hongo de la cual se alimentan (Laemmlen y Hall 1973, Khaustova y Ermilov 2011). En el caso particular de *S. reniformis*, tiene la capacidad

de acarrear e inocular el hongo *N. oryzae* en un ambiente favorable para su desarrollo, ya sea a nivel de laboratorio o de campo donde ha sido encontrado en plantaciones de sorgo, maíz y algodón, siempre asociado a este hongo (Terras *et al.* 1991, Laemmlen y Hall 1973, Palmateer y Mc Lean 2003).

Esta especie en particular, posee unas estructuras en forma de “sacos” llamadas esporotecas, localizadas en la base del último par de patas (pata IV), en la parte ventral del histerosoma. Las esporotecas le permiten a *S. reniformis* portar solamente una o 2 esporas del hongo *N. oryzae* (Figura 7), hasta que encuentra un sustrato adecuado donde las deposita para su germinación y, de esta forma, iniciar nuevamente el ciclo (Lindquist 1985, De Lillo 1996, Terras *et al.* 1991).

Finalmente, se encontraron e identificaron 2 especies de ácaros del género *Tarsonemus* (Figura 3), también relacionados con el transporte de esporas de hongos (Ochoa *et al.* 1991). Vargas y Ochoa (1990) se refieren a *T. bilobatus* como contaminante en medios de cultivo y distinguen la presencia de esporas de *Penicillium* spp. y *Alternaria* spp. adheridas al cuerpo y detrás de las coxas II de estos ácaros. Asimismo, Ochoa *et al.* (1991) encontraron a *T. fusarii* con esporas de hongos adheridas sobre la parte dorsal del cuerpo. Sin embargo, durante la elaboración de este estudio, aunque se recolectaron a estos 2 tarsonémidos asociados con varios hongos, estos fueron localizados en las mismas muestras que *T. putrescentiae* y no se hallaron esporas de ningún hongo en particular, adheridas a su cuerpo.

En Costa Rica, los ácaros encontrados en los laboratorios de cultivo de tejidos están asociados con uno o varios hongos, según la especie de ácaro observado. Todas las especies de ácaros recuperados en este sistema tienen la capacidad de diseminar las hifas o esporas de los hongos, ya sea sobre la superficie de su cuerpo o por medio de estructuras especializadas. Por lo general, cuando se observa un aumento considerable en los niveles de contaminación por hongos y bacterias en los explantes cultivados *in vitro*, esto se deba a la presencia de ácaros en los laboratorios,

por lo que se recomienda al personal que trabaja en dichos laboratorios prestar atención a los niveles de contaminación en los frascos e implementar medidas de monitoreo y control para la erradicación de estos artrópodos.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Mónica Blanco, por la revisión del manuscrito y valiosas sugerencias aportadas. A los revisores externos por sus valiosas recomendaciones.

LITERATURA CITADA

- Abdel-Sater, MA; Hemida, SK; Eraky, SA. 1995. Distribution of fungi on two mite species and their habitats in Egypt. *Folia Microbiologica* 40:304-313.
- Agribio. 2019. Micropropagation of plants by growing *in vitro* (en línea). San José, Costa Rica. Consultado 7 nov. 2019. Disponible en <https://agribiocr.com/index.php/en/products>
- Agrovitro. 2019. Laboratorio de biotecnología dedicado a la micropropagación de plantas (en línea). San José, Costa Rica. Consultado 7 nov. 2019. Disponible en <http://agrovitro.com/index.html>
- Aguilar, H; Murillo, P; Gómez, LE. 2006. Role of mites in tissue culture laboratories: the case of *Siteroptes reniformis* in Costa Rica. Abstract book, 12th International Congress of Acarology, Amsterdam, The Netherlands. p. 7.
- Barnett, HL; Hunter, BB. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. 3 ed. Burgess Publishing Company. Minnesota, Estados Unidos. 241 p.
- Blake, J. 1988. Mites and thrips as bacterial and fungal vectors between plant tissue cultures. *Acta Horticulturae* 225:163-166.
- Boxus, PH; Terzi, JM. 1987. Big losses due to bacterial contamination can be avoided in mass propagation scheme. *Acta Horticulturae* 212:91-93.
- Cabezas, S. 2006. Taisuco de Costa Rica exportando belleza natural al mundo (en línea). San José, Costa Rica. Consultado 28 nov. 2007. Disponible en <http://www.actualidad-e.com/>
- Cassells, AC. 1991. Problems in tissue culture: culture contamination. *In* Debergh PC; Zimmerman RH (eds.). *Micropropagation*. Dordrecht, The Netherlands, Springer, Kluwer Academic Publishers. p. 31-44.
- Cassells, AC. 2000. Aseptic microhydroponics: a strategy to advance microplant development and improve

- microplant physiology. *Acta Horticulturae* 530:187-194.
- Cassels, AC. 2012. Pathogen and biological contamination management in plant tissue culture: Phytopathogens, vitro pathogens, and vitro pests. In Loyola-Vargas, V; Ochoa-Alejo, N (eds.). *Plant cell culture protocols. Methods in molecular biology*. New York, USA, Humana Press. 877:57-80.
- Conger, BV. 2018. *Cloning agricultural plants via in vitro techniques*. Boca Raton, Florida, USA, CRC Press Taylor & Francis Group. 267 p.
- Da Silva, GL; Zanatta-Esswein, I; Thayná-Radaelli, F; Rocha, SM; Juarez-Ferla, N; Santos da Silva, O. 2018. Influence of various diets on development, life table parameters and choice oviposition test of *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridae): An illustration using scanning electron microscopy (SEM). *Journal of Stored Products Research* 76:77-84.
- Da Silva, GL; Zanatta-Esswein, I; Heidrich-Dresch, F; Jachetti-Maciel, M; Machado-Pagani, D; Valente, P; Scroferneker, ML; Johann, L; Juarez-Ferla N; Santos da Silva, O. 2019. Population growth of the stored product pest *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridae) on environmentally and medically important fungi. *Experimental and Applied Acarology* 78:49-64.
- De Lillo, E. 1996. *Siteroptes avenae* (Müller) (Acari Siteroptidae) *Fusarium* spp. (Hyphomycetes Tuberculariaceae). *Entomológica* 30:7-18.
- Duek, L; Kaufman G; Palevsky E; Berdicevsky, I. 2001. Mites in fungal cultures. *Mycoses* 44:390-394.
- El Financiero. 2016. Pyme cultiva bambú “in vitro” exporta y ahora incursiona con fresas y plantas acuáticas (en línea) San José, Costa Rica. Consultado 7 nov. 2019. Disponible en <https://www.elfinancierocr.com/pymes/pyme-cultiva-bambu-in-vitro-exporta-y-ahora-incursiona-con-fresas-y-plantas-acuaticas/TIW7HGNDCFGZLFQ3HH REK7F5WA /story/>
- Erban, T; Hubert, J. 2008. Digestive function of lysozyme in synanthropic acarid mites enables utilization of bacteria as a food source. *Experimental and Applied Acarology* 44:199-212.
- Erban, T; Rybanska, D; Hubert, J. 2015. Population growth of the generalist mite *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridida) following adaptation to high- or low-fat and high- or low-protein diets and the effect of dietary switch. *Environmental Entomology* 44:1599-1604.
- Erban, T; Klimov PB; Smrž, J; Phillips, TW; Nesvorna, M; Kopecky, J; Hubert, J. 2016. Populations of stored product mite *Tyrophagus putrescentiae* differ in their bacterial communities. *Frontier Microbiology* 7:1046.
- Fan, QH; Zhang, ZQ. 2007. *Tyrophagus* (Acari: Astigmata: Acaridae) Fauna of New Zealand. Manaaki Whenua Press, Lincoln, New Zealand. 56: 291.
- Flechtmann, CHW. 1986. Ácaros em produtos armazenados e na poeira domiciliar. Piracicaba, Brasil, FEALQ. 97 p.
- Fontúrbel, F. 2001. Los vitropatógenos: consideraciones generales, detección y eliminación. *Biología org: portal de biología y ciencias de la salud* 6:1-1.
- Gamborg, O; Phillip, GC. 1995. *Plant cell, tissue and organ culture: fundamental methods*. Berlin, New York, USA, Springer press. 349 p.
- González, ME; Hernández, Y. 2010. Efectos de la contaminación microbiana y oxidación fenólica en el establecimiento in vitro de frutas perennes. *Cultivos Tropicales* 31(4):58-69.
- Hubert, J; Stejskal, V; Kubátová, A; Munzbergova, Z; Vanova, M; Ždárková, E. 2003. Mites as selective fungal carriers in stored grain habitats. *Experimental and Applied Acarology* 29:69-87.
- Hubert, J; Jarošík, V; Mourek, J; Kubátová, A; Ždárková, E. 2004. Astigmatid mite growth and fungi preference (Acari: Acarida): Comparisons in laboratory experiments. *Pedobiologia* 48:205-214.
- Hughes, AM. 1976. *The mites of stored food and houses*. London, England, Technical bulletin N° 9, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Her majesty's stationary office. 399 p.
- Jong, SC. 1987. Prevention and control of mite infestations in fungus cultures. *ATCC Quaterly Newsletter* 7(1):5-7.
- Kaliszewski, M. 1987. *Siteroptes longisomus* sp. n. from Poland, with Remarks on the Genus and Key to the Species (Acari, Pygmephoroida). *Entomologische Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum Hamburg* 9(130):21-36.
- Kane, M; Kahut, P; Johnson, T. 2011. Culture indexing for bacterial and fungal contaminants. In Trigiano, R; Gray, D (eds.). *Plant tissue culture development and biotechnology*. Florida, USA, CRC press Taylor and Francis group. p. 239-243.
- Khaustova, AA; Ermilov SG. 2011. A new species of the genus *Siteroptes* (Acari, Heterostigmata, Pygmephoridae) from European Russia. *Entomological Review* 91(4):528–532. DOI: 10.1134/S0013873811040178.
- Krantz, GW; Lindquist, EE. 1979. Evolution of phytophagous mites (Acari). *Annual Review of Entomology* 24:121-158.
- Laemmlen, FF; Hall, DH. 1973. Interdependence of a mite, *Siteroptes reniformis*, and a fungus, *Nigrospora oryzae*, in the Nigrospora Lint Rot of Cotton. *Phytopathology* 63:308-315.
- Leifert, C; Ritchie, J; Waites, WM. 1991. Contaminants of plant tissue and cell cultures. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 7:452-469.
- Leifert, C; Morris, C; Waites, WM. 1994. Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue cultured and field grown plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 13:139-189.

- Leifert, C; Cassells, AC. 2001. Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. *In Vitro Cellular & Developmental Biology* 37:133-138.
- Lindquist, E. 1985. Discovery of sporothecae in adult female *Trochometrídium* Cross, with notes on analogous structures in *Siteroptes* Amerling (Acari: Heterostigmata). *Experimental and Applied Acarology* 1:73-85.
- Loyola-Vargas, VM; Ochoa-Alejo, N. 2018. An Introduction to Plant Tissue Culture: Advances and Perspectives. *In* Loyola-Vargas, VM; Ochoa-Alejo, N (eds). Plant cell culture protocols. *Methods in molecular biology*. New York, USA, Humana Press. vol 1815. p. 3-13.
- Murillo, P. 2011. Ácaros asociados como contaminantes en laboratorios de cultivo de tejidos vegetales en Costa Rica. Tesis M.Sc. San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 152 p.
- Murillo, P; Klimov, PB; Hubert, J; OConnor, BM. 2018. Investigating species boundaries using DNA and morphology in the mite *Tyrophagus curvipenis* (Acari: Acaridae), an emerging invasive pest, with a molecular phylogeny of the genus *Tyrophagus*. *Experimental and Applied Acarology* 75(2):167-189. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10493-018-0256-9>
- Ochoa, R; Smiley, R; Saunders, J. 1991. The family Tarsonemidae in Costa Rica (Acari: Heterostigmata). *International Journal of Acarology* 17(1):41-86.
- Odutayo, OI; Amusa, NA; Okutade, OO; Ogunsanwo, YR. 2007. Sources of microbial contamination in tissue culture laboratories in southwestern Nigeria. *African Journal of Agricultural Reserch* 2(3):67-72.
- Palmateer, AJ; Mclean, KS. 2003. Occurrence of *Nigrospora* Lint Rot Caused by *Nigrospora oryzae* on Cotton in Alabama. *Plant Disease* 87:873.
- Pype, J; Everaert, K; Debergh, P. 1997. Contamination by micro-arthropods in plant tissue cultures. *In* Cassells, AC (eds). *Pathogen and Microbial Contamination Management in Micropropagation*. *Developments in Plant Pathology*, vol 12. Dordrecht, Netherlands, Springer. DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-015-8951-2_32
- Roca, WM; Mroginski, LA. 1993. Cultivo de tejidos en la agricultura. Cali, Colombia, Fundamentos y Aplicación. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 969 p.
- Rybanska, D; Hubert, J; Markovic, M; Erban, T. 2015. Dry dog food integrity and mite strain influence the density-dependent growth of the stored-product mite *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridida). *Journal of Economic Entomology* 109:454-460.
- Smrž, J; Jungová, E. 1989. The ecology of a field population of *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acarida). *Pedobiologia* 33:183-192.
- Smrž, J. 2003. Microanatomical and biological aspects of bacterial associations in *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridida) *Experimental and Applied Acarology* 31:105-113.
- Sriskandarajah, S. 2006. Hygiene problems in plant tissue culture propagation. *Combined Proceedings International Plant Propagators' Society* 56:238-241.
- Summa. 2016. Pyme Costarricense busca exportar plantas in vitro (en línea). San José, Costa Rica. Consultado 7 de nov. 2019. Disponible en <https://revistasumma.com/pyme-costarricense-busca-exportar-plantas-in-vitro/>
- Terras, MA; Clift, AD; Sriskandarajah, S. 1991. Mites, especially Siteroptes species, as vectors of fungal contaminants in plant tissue cultures. *Proceedings of the 1st National Conference sustainable management of pest, diseases and weeds*. Australian Society of Horticultural. Science, Sydney, Australia. sp.
- Van Asselt, L. 1999. Interactions between domestic mites and fungi. *Indoor Built Environment* 8(4):216-220.
- Van Epenhuijsen, CW; Koolaard, J. 2004a. Effective aerosol treatment of mould mites and onion thrips in tissue culture. *Horticultural and Arable Entomology: New Zealand Plant Protection* 57:202-208.
- Van Epenhuijsen, CW; Koolaard, J. 2004b. Monitoring and controlling mould mites in tissue culture facilities. *Horticultural and Arable Entomology: New Zealand Plant Protection* 57:196-201.
- Vargas, C; Ochoa, R. 1990. Medios de cultivo en laboratorio contaminados por *Tarsonemus bilobatus* Suski (Acari: Tarsonemidae) y redescrición de la especie. *Manejo Integrado de Plagas* 18:19-23.
- Walter, DE; Krantz, GW. 2009. Collection, rearing, and preparation for specimens. *In* Krantz, GW; Walter, DE (eds.). *A manual of Acarology*. 3 ed. Lubbock, Texas, USA, Tech University Press. p. 83-96.
- West, TP; Preece, JE. 2006. Use of acephate, benomyl and alginate encapsulation for eliminating culture mites and fungal contamination from in vitro cultures of hardy Hibiscus (*Hibiscus moscheutos* L.). *In vitro cellular and developmental Biology-Plant* 42:301-304.
- Zhang, Z-Q. 2003. *Mites of Greenhouses: Identification, Biology and Control*. CABI Publishing, Wallingford, UK. 244 p.



Todos los derechos reservados. Universidad de Costa Rica. Este artículo se encuentra licenciado con Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObrDerivada 3.0 Costa Rica. Para mayor información escribir a rac.cia@ucr.ac.cr