



Citación: Condori Osorio et al. (2024). Formulación de medios de cultivo líquidos para la producción de biomasa micelial de hongos entomopatógenos nativos de la región Cusco, Perú. Rev. Q'EUÑA 15(1): 27-33

<https://doi.org/10.51343/rq.v15i1.1441>

Recibido: 29-04-2024

Aceptado: 18-05-2024

Publicado: 29-06-2024

Copyright: © 2024 Condori Osorio et al. Este es un artículo de acceso abierto revisado por pares y publicado por la Revista Q'EUÑA de la Sociedad Botánica del Cusco y la U N S A A C (<http://revistas.unsaac.edu.pe/index.php/RQ>) y distribuido bajo los términos de la licencia de atribución Creative Commons, que permite el uso, distribución y reproducción sin restricciones en cualquier medio, siempre que se acredite el autor y la fuente originales.

Declaración de disponibilidad de datos: Todos los datos relevantes están dentro del documento y sus archivos de información de respaldo.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Autor Corresponsal:

Adriana Condori Osorio

183445@unsaac.edu.pe

Jackeline G. Meza Calvo
202046@unsaac.edu.pe
ORCID 0000-0002-4068-8861

Adriana Condori Osorio
183445@unsaac.edu.pe
ORCID 0009-0009-5217-3628

Miguel A. Quispe Ordoñez
qorikamayoq@gmail.com
ORCID 0009-0005-5150-5476

Frank B. Aguilar Mainicta
frank_bio2010I@hotmail.com
ORCID 0000-0002-4024-9594

Mijail Cjuno Quispe
mijail.cjuno@unsaac.edu.pe
ORCID 0000-0002-0202-3084

Ruth Lazarte Lovaton
ruth.lazarte@unsaac.edu.pe
ORCID 0000-0002-7124-3275

Rosana L. Aranzabal Carrasco
rosana.aranzabalunsaac.edu.pe
ORCID 0000-0002-6694-4616

María E. Holgado Rojas
encarnacion.holgador@unsaac.edu.pe
ORCID 0000-0002-2285-867

Formulación de medios de cultivo líquidos para la producción de biomasa micelial de hongos entomopatógenos nativos de la Región Cusco, Perú

Formulation of liquid culture media for the production of mycelial biomass of entomopathogenic fungi native to the Cusco Región, Perú

Jackeline G. Meza Calvo¹, Adriana Condori Osorio^{1,2}, Miguel A. Quispe Ordoñez^{1,3}, Frank B. Aguilar Mainicta^{1,3}, Mijail Cjuno Quispe^{1,2}, Ruth Lazarte Lovaton¹, Rosana L. Aranzabal Carrasco^{1,2}, María E. Holgado Rojas¹

¹Centro de Investigación y Producción de Hongos Alimenticios y Medicinales CIPHAM, Escuela Profesional de Biología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Avenida de la Cultura 733 Cusco, Perú.

²Escuela Profesional de Química, Facultad de Ciencias Químicas, Físicas y Matemáticas, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Avenida de la Cultura 733 Cusco, Perú.

³Biosetas Perú, Centro poblado de Cconchacalla, Provincia de Anta, Cusco, Perú.

Abstract

The mycelial biomass production of strains belonging to three genera of entomopathogenic fungi (*Isaria*, *Beauveria*, and *Cordyceps*) was evaluated in four modified liquid culture media (YPD, SDBY, YPDS, and SDBYES) with the aim of achieving greater growth for the physicochemical analyzes in the search for promising metabolites, so the selection and adequate concentration of nutrients is a fundamental factor. The media were enriched with mineral salts, eggshell ash and standardized to pH 6.7, with incubation carried out at 22°C for 20 days. The results showed variations in biomass production between the different culture media and strains. *Isaria* sp. presented the highest average biomass in SDBYES, followed by *Cordyceps* sp. and *Beauveria* sp. in YPDS. However, statistically no significant differences were found in biomass production between the different media and strains. The pH variation during the incubation phase presented a statistically significant correlation, registering a strong inverse relationship of the values with respect to the incubation time, with an R² of 0.54, which demonstrates that the metabolic activity related to biomass production acidifies the media crop. These findings provide valuable knowledge for the formulation of effective culture media for entomopathogenic fungi with the potential to significantly improve research in the biotechnological application of the mycelium of these fungi.

Key Words: entomopathogenic fungi, biomass, metabolites, liquid culture, Cusco, Perú

Resumen

Se evaluó la producción de biomasa micelial de cepas pertenecientes a tres géneros de hongos entomopatógenos (*Isaria*, *Beauveria*, y *Cordyceps*) en cuatro medios de cultivo líquidos modificados (YPD, SDBY, YPDS, y SDBYES) con la finalidad de lograr mayor crecimiento para los análisis fisicoquímicos en la búsqueda de metabolitos promisorios, por lo que la selección y concentración adecuada de los nutrientes es un factor fundamental. Los medios fueron enriquecidos con sales minerales, ceniza de cascara de huevo y estandarizados a pH 6.7 llevándose a cabo la incubación a 22°C durante 20 días. Los resultados mostraron variaciones en la producción de biomasa entre los diferentes medios de cultivo y cepas. *Isaria* sp. presentó la mayor biomasa promedio en SDBYES, seguido de *Cordyceps* sp. y *Beauveria* sp. en YPDS. Sin embargo, estadísticamente no se encontraron diferencias significativas en la producción de biomasa entre los distintos medios y cepas. La variación de pH durante la fase de incubación presentó una correlación estadísticamente significativa registrándose una relación inversa fuerte de los valores respecto al tiempo de incubación, con un R² de 0.54 lo que demuestra que la actividad metabólica relacionada a la producción de biomasa acidifica los medios de cultivo. Estos hallazgos aportan conocimientos valiosos para la formulación de medios de cultivo efectivos para hongos entomopatógenos con el potencial de mejorar significativamente las investigaciones en la aplicación biotecnológica del micelio de estos hongos.

Palabras clave: Hongos entomopatógenos, biomasa, metabolitos, cultivo líquido, Cusco, Perú

Introducción

Los hongos entomopatógenos son microorganismos que habitan en el suelo, infectan y controlan insectos y otros artrópodos a través de la penetración de la cutícula (Pepi et al., 2022), son organismos que evolucionaron para explotar a los insectos. Comprenden una amplia gama de especies de hongos morfológica, filogenética y ecológicamente diversas (Araújo & Hughes, 2016).

Desde la década de 1960 se han realizado investigaciones pioneras en el cultivo de hongos entomopatógenos en medios de cultivo líquidos, sentando las bases para comprender los requisitos nutricionales y las condiciones óptimas de crecimiento de estos hongos, al ser quimioheterótrofos, sintetizan compuestos orgánicos necesarios para la producción de energía y por ende para su crecimiento siendo los carbohidratos la fuente de carbono preferida, ya que tienen la capacidad de absorber y metabolizar azúcares como la glucosa, xilosa, sacarosa y fructosa (Moore, et al., 2011). Estos nutrientes clave proporcionan los componentes básicos, la energía y los cofactores necesarios para las reacciones bioquímicas que favorecen el crecimiento de los hongos. La concentración adecuada de carbono, nitrógeno, oxígeno, hidrógeno, minerales y vitaminas varía según la especie y la cepa de hongos. La selección de los ingredientes y las concentraciones óptimas del medio puede llevar mucho tiempo y ser laboriosa, especialmente para la fermentación líquida, pero es extremadamente importante definir las condiciones nutricionales apropiadas para lograr el máximo rendimiento de propagación en el menor tiempo de fermentación. Los nutrientes también pueden afectar la morfogénesis de los hongos, la formación de propágulos, la tasa de crecimiento específico y la calidad y aptitud de los propágulos para su uso en el control biológico (Jackson, 1997). Se pueden utilizar fuentes inorgánicas de nitrógeno como, nitrato de potasio (KNO_3), nitrato de sodio (NaNO_3) (Bidochka et al., 1987) y sulfato de amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), fuentes orgánicas como peptona, levadura (Moore D et al., 2011), agua de remojo de maíz (Vidal et al., 1998) y casaminoácidos (Jackson, 1997).

Pueden cultivarse en laboratorio en medios líquidos, siendo los más utilizados YPD (Yeast Peptone Dextrose) debido a su simplicidad y efectividad para promover el crecimiento de una amplia gama de hongos, SDBY (Sabouraud Dextrose Broth with Yeast extract), YPDS (Yeast Peptone Dextrose with serum), SDBYES (Sabouraud Dextrose Broth with Yeast extract and serum). La adición de suero puede proporcionar nutrientes adicionales como fuente inorgánica, favoreciendo un crecimiento micelial más robusto. Estos medios proporcionan los nutrientes necesarios para el crecimiento de los hongos y pueden ser modificados para optimizar la producción de biomasa según las necesidades específicas del hongo y del objetivo del estudio o aplicación (Jaronski & Mascarín, 2017).

Por otro lado, el género *Isaria* es importante para el control biológico, ya que especies como *I. farinosa*, *I. javanica* e *I. fumosorosea* muestran potencial como bioinsecticidas contra

plagas como *Nasutitermes corniger* (Lopes et al., 2017), *I. fumosorosea* es un potente hongo entomopatógeno eficaz contra las larvas de *Eublemma amabilis* (P. Das et al., 2022), *Isaria javanica*, desempeña un papel crucial como entomopatógeno, ya que parasita eficazmente a varios insectos y contribuye al control de las plagas a través de sus proteasas patógenas y metabolitos secundarios (Lin et al., 2019), también se sabe que este género es importante para producir compuestos bioactivos como las isariotinas y la beauvericina con potentes propiedades antioxidantes y antiproliferativas, como se ha demostrado en *I. tenuipes* del Himalaya de Darjeeling (Chhetri et al., 2020).

Especies del género *Beauveria*, muestran potencial como agentes de control biológico contra *Bemisia tabaci* y *Trialeurodes vaporariorum*, destacando *B. bassiana* ARP14 por su importancia en el manejo de plagas (Jang et al., 2023) exhibiendo una potente actividad antibacteriana, lo que la hace valiosa para el control biológico contra varias bacterias, en particular las cepas grampositivas (Camele et al., 2023). Por su parte, el género *Cordyceps* es notable debido a la producción de aproximadamente 131 metabolitos bioactivos, lo que ofrece un gran potencial para la investigación y el desarrollo de nuevos fármacos (Qu et al., 2022), importantes por sus propiedades inmunoestimuladoras, incluida la producción de citocinas, la estimulación de la fagocitosis y los efectos antiinflamatorios, además de diversas actividades farmacológicas, con propiedades antioxidantes y anticancerígenas (Das G. et al., 2021)

Bajo ese contexto, la formulación de medios de cultivo líquidos es crucial para la producción de biomasa micelial, ya que varios factores clave afectan tanto el crecimiento del hongo como su eficacia biológica. Un equilibrio adecuado entre los diferentes nutrientes y el pH es esencial para maximizar la producción de biomasa y asegurar que el hongo crezca de manera saludable y vigorosa. Por lo que, en la presente investigación, se evaluó el comportamiento de los géneros *Isaria*, *Cordyceps* y *Beauveria* en cuanto a la producción de biomasa y la variación del pH en diferentes medios de cultivo líquidos modificados con la finalidad de obtener micelio para la extracción, purificación y caracterización de los compuestos fenólicos y su uso en futuras aplicaciones biotecnológicas.

Materiales y Métodos

El trabajo se desarrolló en los laboratorios del Centro de Investigación y Producción de Hongos Alimenticios y Medicinales - CIPHAM de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, para lo cual se emplearon cepas aisladas en laboratorio a partir de sinemas y estromas, colectados en la Provincia de La Convención, los mismos que forman parte del banco de germoplasma del CIPHAM.

Especies de estudio

Se estudiaron tres géneros de hongos entomopatógenos: *Isaria* (Isa-Pr-02), *Beauveria* (Beu-Kit-21) y *Cordyceps* (Cor-Alf-01). Estos hongos fueron colectados en las localidades de Palma Real, Kiteni y Alfamayo, respectivamente, todas pertenecientes a la Provincia de La Convención, en el Departamento de Cusco, Perú.

Preparación del inóculo

Las muestras colectadas, debidamente identificadas, se aislaron in vitro en PDA (Papa Dextrosa Agar) y se incubaron a 22°C durante 15 días. Una vez que las placas estuvieron cubiertas con micelio de las cepas en estudio, se procedió a inocular frascos con 100 ml de solución isotónica (0.9%), debidamente esterilizados por calor húmedo (121°C a 15 lb durante 15 minutos), utilizando un gramo de micelio. Posteriormente, los frascos se agitaron a 120 RPM durante 15 minutos. Transcurrido este tiempo, se incubaron a 22°C durante 48 horas para activar el micelio.

Formulación de medios de cultivo líquidos

Se realizaron cuatro formulaciones de medios de cultivo líquidos con cinco repeticiones cada una (Tabla 1). A estas formulaciones se les añadieron diferentes sales minerales para favorecer el crecimiento y la producción de biomasa micelial, manteniéndolas estandarizadas a un pH de 6.7 debido a que estos hongos crecen en un rango de pH entre 5-7. Así el crecimiento óptimo para *Beauveria* oscila en pH 5-8 (Hallsworth y Magan, 1996), *Cordyceps* a un pH 7 y temperatura de incubación 22°C (Singh, S. y Singh, G. 2023), mientras que *Isaria* tiene un crecimiento óptimo en pH 5.5 (Agudelo 1983).

1. Medio Extracto de Levadura, Peptona y Dextrosa (YPD): Contiene 10 g/L de extracto de levadura, 10 g/L de peptona, 20 g/L de dextrosa anhidra extra pura, 0.5 g/L de CaCl₂·2H₂O, 0.5 g/L de MgSO₄·7H₂O, 3 g/L de NH₄NO₃, y 0.5 g/L de KH₂PO₄, modificado de Suparmin et al. (2019).

2. Medio Sabouraud Dextrosa con extracto de levadura (SDBY): Contiene 30 g/L de Sabouraud Dextrose Broth, enriquecido con 10 g/L de extracto de levadura.

3. Extracto de levadura, peptona, dextrosa -sales minerales: Contiene 10 g/L de extracto de levadura, 10 g/L de peptona, 20 g/L de dextrosa anhidra extra pura, 0.5

g/L de CaCl₂·2H₂O, 0.5 g/L de MgSO₄·7H₂O, 3 g/L de NH₄NO₃, 0.5 g/L de KH₂PO₄, 0.46 × 10⁻³ g/L de ácido cítrico, 0.5 × 10⁻³ g/L de ZnSO₄, 0.1 × 10⁻³ g/L de Fe(NH₄)₂(SO₄)₂·6H₂O y 0.025 × 10⁻³ g/L de CuSO₄·5H₂O, modificado de Suparmin et al. (2019).

4. Medio Sabouraud Dextrosa con extracto de levadura y cascara de huevo (SDBYES): Contiene 30 g/L de Sabouraud Dextrose Broth, enriquecido con 10 g/L de extracto de levadura y 5 g/L de ceniza de cáscara de huevo, modificado de Chiriví et al. (2017).

Tabla 1: Medios de Cultivo y Cepas

Medio de cultivo	Cepa	Repeticiones
SDBY	Bea-Kit-21	5
	Isa-Pr-02	5
	Cor-Alf-01	5
SDBYES	Bea-Kit-21	5
	Isa-Pr-02	5
	Cor-Alf-01	5
YPD	Bea-Kit-21	5
	Isa-Pr-02	5
	Cor-Alf-01	5
YPDS	Bea-Kit-21	5
	Isa-Pr-02	5
	Cor-Alf-01	5
Total		60

Biomasa micelial y medición del pH

Se utilizaron frascos autoclavables con una capacidad de 500 ml, al que se añadieron 250 ml del medio de cultivo formulado y 4 ml del inóculo de la cepa correspondiente. Los frascos se agitaron a 120 RPM durante 15 minutos y posteriormente se incubaron a 22°C durante 20 días. Después de la incubación, cada muestra se filtró al vacío y se secó en un deshidratador a 30°C para obtener la biomasa micelial. Para la medición del pH se extrajo una alícuota de 3ml por tratamiento cada 3 días durante el proceso de la investigación.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante un análisis factorial con un nivel de significancia de p = 0.05.

Resultados y Discusión

Tabla 2: Descripción de las Cepas

MEDIO DE CULTIVO	SDBY	YDP	SDBYES	YDPS
CEPA				
Cor-Alf-01	Micelio blanco, algodonoso, con el paso del tiempo crema de crecimiento superficial y suspendido filamentoso en el medio	Micelio color blanco/ con el paso del tiempo color crema, poco algodonoso, de crecimiento superficial, escaso crecimiento suspendido en el medio	Micelio crema claro, escaso, superficial. Escaso crecimiento suspendido	Micelio blanco y con el paso del tiempo color crema, escaso y superficial.
Isa-Pr-02	Micelio color blanco algodonoso compacto, se observó un crecimiento suspendido filamentoso suelto y conglomerado y un crecimiento superficial	Micelio color blanco algodonoso no tan compacto, se observó crecimiento superficial y escaso crecimiento suspendido.	Micelio de color blanco con buen crecimiento, compacto en la superficie del medio, con escaso micelio suspendido.	Micelio blanco con el paso del tiempo crema, crecimiento superficial algodonoso, escaso crecimiento suspendido.
Bea-Kit-21	Micelio blanco, con el paso del tiempo crema bubalinus se observó crecimiento elevado en la superficie y suspendido como pequeños filamentos dispersos	Micelio blanco, con el paso del tiempo crema bubalinus se observó crecimiento elevado en la superficie poco algodonoso, muy poco micelio suspendido	Micelio blanco, con el paso del tiempo crema bubalinus se observó crecimiento elevado en la superficie	Micelio blanco, algodonoso, compacto, crecimiento superficial, y casi nulo el crecimiento suspendido

Como podemos ver en la tabla 2 y la figura 1, el micelio de las cepas en estudio mostró un crecimiento inicial suspendido durante los primeros días, que luego se volvió superficial con el paso del tiempo. En el medio SDBY se observó un crecimiento micelial vigoroso, tanto superficial como suspendido, para el género *Isaria*. En contraste, en el medio YDPS solo se observó un crecimiento superficial para *Cordyceps*. En el caso de *Beauveria*, se observó un crecimiento más homogéneo en los diferentes tratamientos.

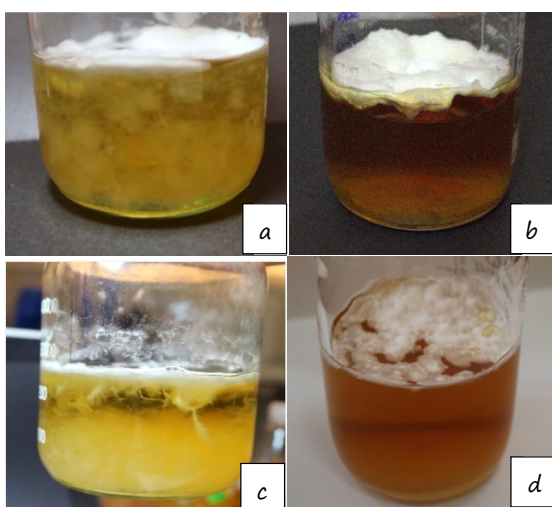


Figura 1. Micelios en crecimiento en medios de cultivo líquidos: a) SDBY b) YDP c) YDPS d) SDBYES

Tabla 3: Promedios de biomasa micelial según cepa y según medio

Cepas	Medios de cultivos líquidos			
	SDBY	SDBYES	YPD	YDPS
Bea-Kit-21	0,3956 g	0,2104 g	0,4104 g	0,4234 g
Isa-Pr-02	0,4692 g	0,7874 g	0,3846 g	0,2500 g
Cor-Alf-01	0,6388 g	0,4310 g	0,3346 g	0,7254 g

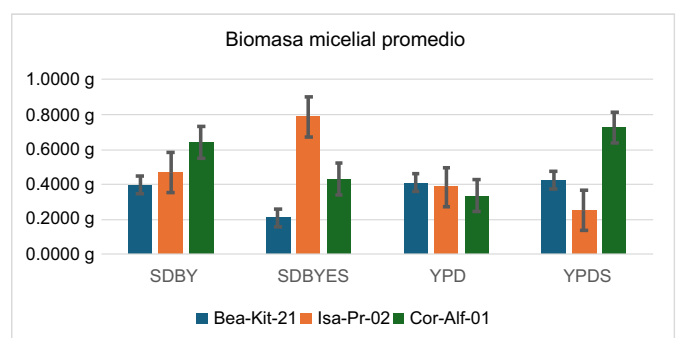


Figura 2. Promedio de biomasa micelial en función al medio de cultivo líquido y cepa.

Cada cepa produce diferentes cantidades de micelio en cada medio de cultivo (Tablas 3 y figura 2); para Isa Pr-02 el medio de cultivo con mayor crecimiento promedio de micelio fue SDBYES con 0,7874 g, seguido de Cor-Alf-01 y Bea-Kit-21 con 0.7254g y 0.4234g respectivamente, ambos en el medio YPDS. Estos resultados confirman lo referido por Jaronski & Mascarin, (2017) quienes indican que estos hongos pueden cultivarse in vitro en medios líquidos siendo los más utilizados SDBY y SDBYES que contiene dextrosa, peptona y extracto de levadura enriquecidos con sales minerales, favoreciendo un crecimiento micelial más vigoroso, semejante a lo hallado en la presente investigación donde la adición de sales minerales en los dos medios (YPDS, SDBYES) y ceniza de cascara de huevo para la formulación SDBYES que en cantidades mínimas estimula el crecimiento micelial del hongo. Además que en el proceso de producción micelial existen suplementos con microelementos como sales, elementos en trazas y vitaminas que no son indispensables en grandes cantidades para el desarrollo del hongo, como lo menciona Cruz (2007).

Análisis Factorial de la biomasa en función de los medios de cultivo y las cepas

Tabla 4: ANOVA de las variables predictoras

Origen	gl	Media cuadrática	F	p
MEDIO	3	0,044	0,232	0,874
CEPA	2	0,153	0,802	0,455
MEDIO * CEPA	6	0,215	1,123	0,364
Error	48	0,192		

El resultado indica que no existe diferencias significativas respecto a la producción de biomasa en los distintos tratamientos para los dos factores “medio de cultivo” y “cepa” como también la interacción de estos. Probablemente esto se deba a la composición del medio de cultivo, que tuvo como base la misma formulación con variaciones en las sales minerales (CaCl₂·2H₂O, MgSO₄·7H₂O, NH₄NO₃, KH₂PO₄ 0.5 g/L, ZnSO₄ 0.5, Fe (NH₄)₂(SO₄)·2.6H₂O, y CuSO₄·5H₂O) compuestos que no son esenciales para el crecimiento del hongo entomopatógeno, pero que sin embargo, afecta al desarrollo fenotípico según la especie, concentración y variedad de los componentes del medio de cultivo, características que también son citadas por Jaronski (2014).

En la figura 3 podemos ver que los intervalos de la media al 95% de confianza muestran similitud en todos los casos. Como lo menciona Jackson (1997), los nutrientes son elementos clave para favorecer el crecimiento de estos hongos pudiéndose utilizar fuentes inorgánicas de nitrógeno como, nitrato de potasio (KNO₃), nitrato de sodio (NaNO₃) y sulfato de amonio ((NH₄)₂SO₄), y fuentes orgánicas como peptona y levadura como se refieren Bidochka et al., (1987) y Moore et al. (2011), nutrientes semejantes a los utilizados en la presente investigación, pero que sin embargo no reflejan una variación significativa en la producción de biomasa.

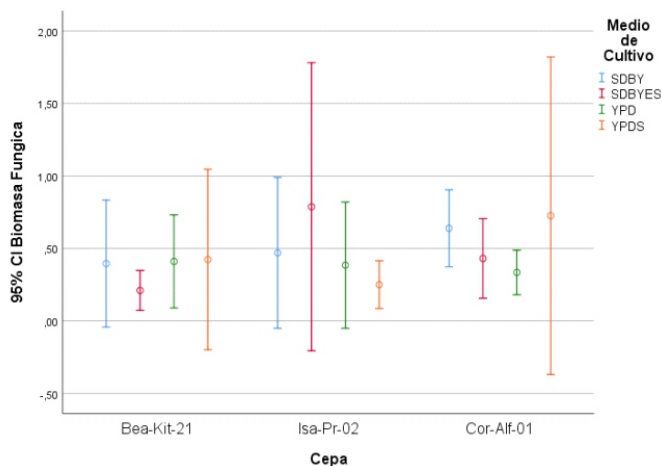


Figura 3: Intervalo de la media al 95% de confianza

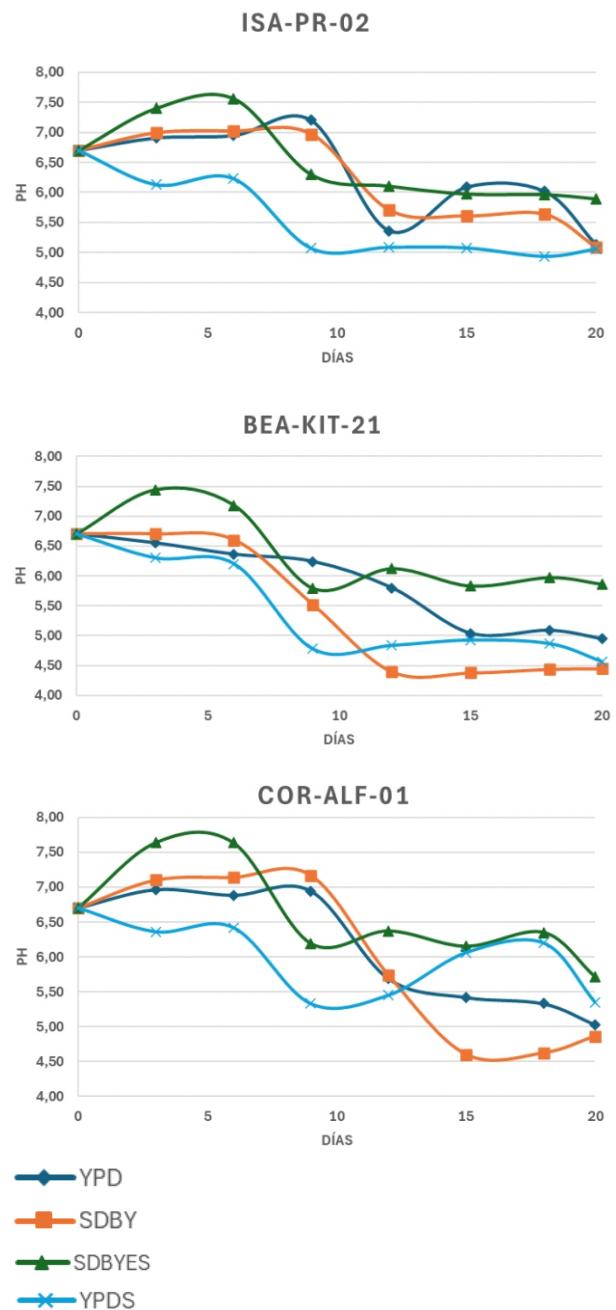


Figura 4. Comportamiento del pH durante 20 días en 4 medios de cultivo líquidos formulados.

Se estandarizo el pH inicial a 6.7 la misma que sufrió pequeñas variaciones con tendencia a la disminución a partir del día 3 llegando a oscilar entre 4-5 durante los días 17 y 20, observándose este fenómeno para las tres cepas en los 4 medios de cultivo formulados, disminuyendo además el volumen de la masa micelial, según Hanlon et al., (1994) esta variación

se genera por la degradación de proteínas y fermentación de carbohidratos del medio de cultivo. Cañedo (2004) menciona que los pH recomendados para el cultivo de hongos entomopatógenos en el laboratorio son neutros o ligeramente ácidos, por su parte Chávez (2008) observó un mayor crecimiento en un rango de pH de 6.1-8.5 y menor crecimiento entre un pH de 4 - 5 en los últimos periodos de tiempo para *Beauveria* y *Metarhizium*, resultados semejantes a la presente investigación donde se observó que el pH disminuyó a lo largo del tiempo en todos los medios de cultivo, excepto con *Isaria* que mantuvo sus valores en comparación con las otras cepas, especialmente en YPD y SDBYES.

Prueba de regresión lineal simple para el pH en función del tiempo

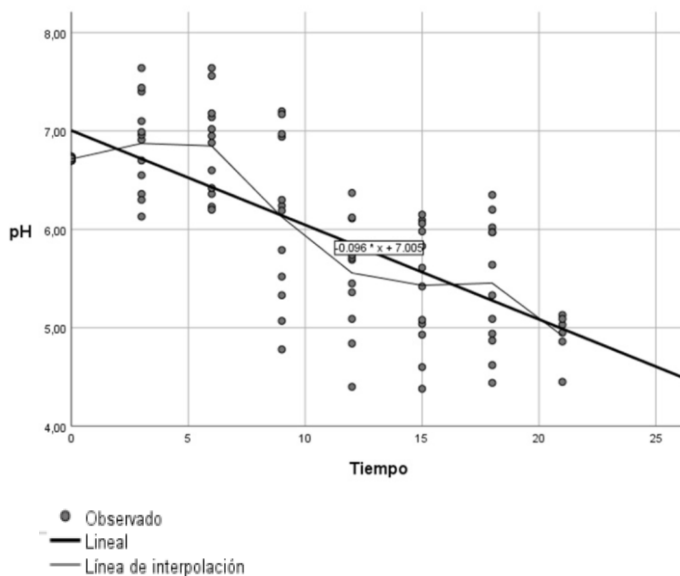


Figura 5. Regresión lineal simple para predecir el efecto del tiempo sobre el pH en medios de cultivo líquidos.

Tras calcular el modelo de regresión lineal simple para predecir el efecto del tiempo sobre el pH en medios de cultivo líquidos, la ecuación de la regresión fue estadísticamente significativa $F(1) = 101.77, p < .001$, donde el valor de la R^2 fue de 0.54 demostrándose que la actividad metabólica relacionada a la producción de biomasa acidifica los medios de cultivo en todas las cepas y medios de cultivo estudiados. Así mismo, la ecuación de regresión lineal fue la siguiente:

$$Y = - .096 * tiempo + 7.005$$

Donde la puntuación del pH disminuye 0.096 cada día, lo que indica que a medida que transcurre el tiempo durante el crecimiento de la cepa, el medio de cultivo líquido se acidifica (Figura 5)

Conclusiones

La disposición de las sales minerales adicionadas a las formulaciones respectivas como suplementos indujeron al crecimiento del micelio. Cada hongo entomopatógeno se adaptó

a un medio formulado diferente según sus necesidades, así el medio SDBYES demostró ser el más efectivo para la producción de biomasa micelial de *Isaria* sp. mientras que YPDS fue el medio propicio para *Beauveria* sp. y *Cordyceps* sp. Esto sugiere que las condiciones óptimas de cultivo pueden variar entre diferentes especies de hongos, incluso cuando se utilizan medios ricos en nutrientes.

La influencia del pH indica que el ajuste de este en el medio de cultivo tuvo un impacto significativo en la producción de biomasa. Los hongos respondieron mejor en un rango de pH específico, destacando la importancia de mantener condiciones controladas y óptimas durante el cultivo.

Este estudio proporciona una base para el desarrollo de métodos de cultivo más eficientes y efectivos para hongos entomopatógenos, con el potencial de mejorar significativamente las investigaciones en la aplicación biotecnológica del micelio de estos hongos.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco por el financiamiento a través del convenio CONCYTEC-UNSAAC, Esquema Financiero E041-2020-01-UNSAAC “Proyectos de Investigación Programa Yachayninchis Wiñarinanpaq” contrato N.º 007-2021-UNSAAC.

Referencias

- Agudelo, E., & Falcon, L. A. (1983). Mass production, infectivity, and field application studies with the entomogenous fungus *Paecilomyces farinosus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 42(1), 124–132. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(83\)90210-0](https://doi.org/10.1016/0022-2011(83)90210-0)
- Araújo, J. P. M., & Hughes, D. P. (2016). Diversity of Entomopathogenic Fungi. Which Groups Conquered the Insect Body? *Advances in Genetics*, 94, 1–39. <https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2016.01.001>
- Bidochka, M. J., Pfeifer, T. A., & Khachatourians, G. G. (1987). Development of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in liquid cultures. *Mycopathologia*, 99(2), 77–83. <https://doi.org/10.1007/BF00436909/METRICS>
- Camele, I., Sadeek, S. A., Racioppi, R., & Elshafie, H. S. (2023). *Biological Activity of Beauveria bassiana and Chemical Profile of Its Volatile Secondary Metabolites Using Spme-Gc/Ms Analytical Systems*. <https://doi.org/10.20944/PREPRINTS202305.2095.V1>
- Cañedo, V., & Ames, T. (2004). *Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos*. <https://doi.org/cip@cgiar.org>, www.cipotato.org
- Chávez Yáñez, T. I. (2008). Crecimiento de *Beauveria bassiana* y *Metarhizium anisopliae* en distintos niveles de pH. https://go.openathens.net/redirector/udec.cl?url=http://tesisencap.udec.cl/chillan/agronomia/chavez_y_t_i/index.html

- Chhetri, D. R., Chhetri, A., Shahi, N., Tiwari, S., Karna, S. K. L., Lama, D., & Pokharel, Y. R. (2020). *Isaria tenuipes* Peck, an entomopathogenic fungus from Darjeeling Himalaya: Evaluation of in-vitro antiproliferative and antioxidant potential of its mycelium extract. *BMC complementary medicine and therapies*, 20(1), 185. <https://doi.org/10.1186/S12906-020-02973-W/FIGURES/7>
- Chiriví, J., Danies, G., Sierra, R., Schauer, N., Trenkamp, S., Restrepo, S., & Sanjuan, T. (2017). Metabolomic profile and nucleoside composition of *Cordyceps nidus* sp. nov. (Cordycipitaceae): A new source of active compounds. *PLoS ONE*, 12(6), 1–27. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179428>
- Cruz Martínez, L. C. (2007). *Trichoderma koningii* as a potential parasite of sclerotia of *Sclerotium rolfsii*. In *Cryptogamie, Mycologie* (Vol. 22, Issue 4). [https://doi.org/10.1016/S0181-1584\(01\)01073-9](https://doi.org/10.1016/S0181-1584(01)01073-9)
- da Silva Santos, A. C., da Silva Lopes, R., de Oliveira, L. G., Diniz, A. G., Shakeel, M., de Luna Alves Lima, E. Á., da Costa, A. F., & de Menezes Lima, V. L. (2022). Entomopathogenic Fungi: Current Status and Prospects. *New and Future Development in Biopesticide Research: Biotechnological Exploration*, 55–91. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3989-0_2
- Das, G., Shin, H. S., Leyva-Gómez, G., Prado-Audelo, M. L. D., Cortes, H., Singh, Y. D., Panda, M. K., Mishra, A. P., Nigam, M., Saklani, S., Chaturji, P. K., Martorell, M., Cruz-Martins, N., Sharma, V., Garg, N., Sharma, R., & Patra, J. K. (2021). *Cordyceps* spp.: A Review on Its Immune-Stimulatory and Other Biological Potentials. En *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 11, p. 602364). *Frontiers Media S.A.* <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.602364>
- Das, P., Borah, B., Saikia, P., Hazarika, L. K., Sharma, K. K., Mohanasundaram, A., Boro, R. C., Kalita, R., & Gautam, T. (2022). Molecular characterization of an *Isaria fumosorosea* (Wize) native strain, and its pathogenicity on *Eublemma amabilis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 32(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/S41938-022-00624-5/TABLES/5>
- Hallsworth JE, Magan N. Culture Age, Temperature, and pH Affect the Polyol and Trehalose Contents of Fungal Propagules. *Appl Environ Microbiol.* 1996 Jul;62(7):2435-42. doi: 10.1128/aem.62.7.2435-2442.1996. PMID: 16535354; PMCID: PMC1388892.
- Hanlon, D. W., & Ordal, G. W. (1994). Cloning and characterization of genes encoding methyl-accepting chemotaxis proteins in *Bacillus subtilis*. *Journal of Biological Chemistry*, 269(19), 14038-14046.
- Hoa, P. N., Hoa, N. D., Diep, T. K., van Huyen, P., & Nguyen, T. B. (2023). The effects of temperature, pH, and media on mycelium growth of *Isaria tenuipes* (Peck.) Samson (DL0099) from Lang Biang Mountain, Lam Vien Plateau, Vietnam.
- Jackson, M. A. (1997). Optimizing nutritional conditions for the liquid culture production of effective fungal biological control agents. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 19(3), 180–187. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900426>
- Jang, L., Park, Y. gyun, & Lim, U. T. (2023). *Beauveria bassiana* ARP14 a potential entomopathogenic fungus against *Bemisia tabaci* (Gennadius) and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 26(1), 102022. <https://doi.org/10.1016/J.ASPEN.2022.102022>
- Jaronski, S. T. (2023). Mass production of entomopathogenic fungi—state of the art. *Mass production of beneficial organisms*, 317-357.
- Jaronski, S. T., & Mascarin, G. M. (2017). Mass Production of Fungal Entomopathogens. *Microbial Control of Insect and Mite Pests: From Theory to Practice*, 141–155. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803527-6.00009-3>
- Khan, S., Guo, L., Maimaiti, Y., Mijit, M., & Qiu, D. (2012). Entomopathogenic Fungi as Microbial Biocontrol Agent. *Molecular Plant Breeding*. <https://doi.org/10.5376/mpb.2012.03.0007>
- Lin, R., Zhang, X., Xin, B., Zou, M., Gao, Y., Qin, F., Hu, Q., Xie, B., & Cheng, X. (2019). Genome sequence of *Isaria javanica* and comparative genome analysis insights into family S53 peptidase evolution in fungal entomopathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(17), 7111–7128. <https://doi.org/10.1007/S00253-019-09997-4/METRICS>
- Litwin, A., Nowak, M. & Ró alska, S. Entomopathogenic fungi: unconventional applications. *Rev Environ Sci Biotechnol* 19, 23–42 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11157-020-09525-1>
- Lopes, R. D. S., Lima, G. D., Correia, M. T. D. S., da Costa, A. F., Lima, E. Á. D. L. A., & Lima, V. L. D. M. (2017). The potential of *Isaria* spp. as a bioinsecticide for the biological control of *Nasutitermes corniger*. *Biocontrol Science and Technology*, 27(9), 1038-1048.
- Moore D, M. D., Robson G, D, Robson G, D., & Trinci A, P, J. (2011). *21st Century Guidebook to fungi*. Cambridge University Press.
- Pepi, M., Barretta, R., Mantzoukas, S., Kitsiou, F., Natsiopoulou, D., & Eliopoulos, P. A. (2022). Entomopathogenic Fungi: Interactions and Applications. *Encyclopedia 2022, Vol. 2, Pages 646-656*, 2(2), 646–656. <https://doi.org/10.3390/ENCYCLOPEDIA2020044>
- Qu, S.-L., Li, S.-S., Li, D., & Zhao, P.-J. (2022). Metabolites and Their Bioactivities from the Genus *Cordyceps*. *Microorganisms* 2022, Vol. 10, Page 1489, 10(8), 1489. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS10081489>
- Singh, S., & Singh, G. (2023). Mycelium Performance of Medicinally Important Fungus (*Cordyceps militaris*) on Different pH and Temperature. *International Journal of Plant & Soil Science*, 35(18), 1579–1586. <https://doi.org/10.9734/ijpss/2023/v35i183428>
- Suparmin, A., Kato, T., Takemoto, H., & Park, E. Y. (2019). Metabolic comparison of aerial and submerged mycelia formed in the liquid surface culture of *Cordyceps militaris*. *Microbiologyopen*, 8(9), e00836.
- Vidal, C., Fargues, J., Lacey, L. A., & Jackson, M. A. (1998). Effect of various liquid culture media on morphology, growth, propagule production, and pathogenic activity to *Bemisia argentifolii* of the entomopathogenic Hyphomycete, *Paecilomyces fumosoroseus*. *Mycopathologia*, 143(1), 33–46. <https://doi.org/10.1023/A:1006962808712/METRICS>