

Investigación

Trabajo de Grado

EVALUACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO ALTERNATIVOS PARA LA PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE *Cordyceps* sp.



Universidad
Popular del Cesar

Departamento
de Microbiología



Universidad
Popular del Cesar

Evaluación de medios de cultivo alternativos para la producción de conidios de *Cordyceps* sp.

Trabajo de grado desarrollado por:

Maria Jose Torres Najera
Luz Sandys Tobias Orozco

Presentado al:

Departamento de Biología, Microbiología y afines
Facultad de Ciencias Básicas
Universidad Popular del Cesar

Línea de Investigación
Bioprospección

Director:

Alejandra Paola Quintero Linero –
Universidad Popular del Cesar, Colombia

Valledupar, Colombia
Abril - 2026



Universidad
Popular del Cesar

**Evaluación de medios de cultivo
alternativos para la producción de
conidios de *Cordyceps* sp.**

Presentado al:

Departamento de Biología, Microbiología y afines
Facultad de Ciencias Básicas
Universidad Popular del Cesar

Línea de Investigación
Bioprospección

Valledupar, Colombia.

Abril - 2026

Tabla de contenido

Resumen

Introducción

1. Capítulo I.....	8
1.1. Problema en estudio.....	8
1.1.1. Planteamiento del problema.....	8
1.1.2. Justificación.....	11
1.1.3. Objetivos.....	14
1.1.3.1. Objetivo general.....	14
1.1.3.2. Objetivos específicos.....	14
1.1.4. Hipótesis.....	14
2. Capítulo II.....	14
2.2. Marco teórico.....	14
2.2.1. Antecedentes.....	14
2.2.2. Bases teóricas.....	17
2.2.2.1. <i>Cordyceps</i> sp.....	17
2.2.2.2. Reproducción asexual de <i>Cordyceps</i> sp.....	18
2.2.2.3. Actividad enzimática de <i>Cordyceps</i> sp.....	19
2.2.2.4. Medios de cultivos.....	19
2.2.2.5. Importancia económica, medicinal y en la agricultura de <i>Cordyceps</i> sp.....	20
2.2.2.6. Importancia de la producción de conidios de <i>Cordyceps</i> sp.....	21
2.2.2.7. Importancia de los medios de cultivos para el desarrollo de <i>Cordyceps</i> sp.....	21
3. Capítulo III.....	22
3.1. Metodología.....	22
3.1.1. Tipo y enfoque de investigación.....	22
3.1.2. Localización del estudio.....	22
3.1.3. Fase I.....	22
3.1.3.1. Obtención de <i>Cordyceps</i> sp.....	22
3.1.3.2. Activación de la cepa.....	22
3.1.3.3. Reaislamiento de <i>Cordyceps</i> sp.....	23
3.1.3.4. Características morfológicas de las cepas de <i>Cordyceps</i> sp.....	23
3.1.3.4.1. Características macroscópicas.....	24
3.1.3.4.2. Características microscópicas.....	24
3.1.3.4.3. Características enzimáticas.....	24

3.1.4.	Fase II.....	25
3.1.4.1.	Procesamiento de sustratos	25
3.1.4.2.	Diseño de medios de cultivo alternativos.....	25
3.1.4.3.	Preparación de medios de cultivo alternativos	26
3.1.4.4.	Inoculación de <i>Cordyceps</i> sp. en los diferentes medios de cultivo alternativos	26
3.1.4.5.	Obtención de conidios	27
3.1.5.	Fase III.....	27
3.1.5.1.	Viabilidad de los conidios de <i>Cordyceps</i> sp.....	27
3.1.5.2.	Análisis estadístico	28
4.	Capítulo IV	28
4.1.	Resultados y discusión.	28
4.1.1.1.	4.1.1.1 Características Macroscópicas	28
4.1.1.2	Características Microscópicas.....	30
4.1.1.3	Caracterización enzimática	32
4.1.2.	Medición de diámetro en medio de cultivo EMA y PDA.	34
4.1.2.1.	Tasa de crecimiento radial de <i>Cordyceps</i> sp. en PDA y EMA.	36
4.1.2.2.	Crecimiento radial (mm) en diseño de Mezcla del hongo <i>Cordyceps</i> sp. en Medio alternativos de Papa (A) y Avena (B).....	38
4.1.3.1	Características macroscópicas.....	39
4.1.3.1.	4.1.3.2 Característica microscópica.....	40
4.1.3.2.	4.1.3.3 Caracterización enzimática	42
4.1.4.1.	Tasa de crecimiento radial de <i>Cordyceps</i> sp. en medio alternativos a base de Papa y Avena. 44.....	44
4.1.5.	Obtención de conidios	47
4.1.6.	Viabilidad de los conidios	49
5.	Capítulo V.....	50
5.1.	Conclusiones.....	50
5.2.	Recomendaciones.....	52
	Referencias bibliográficas.....	53
	Anexos.....	68

Lista de tablas

Tabla 1. Composición de los medios de cultivo micológicos comerciales.

Tabla 2. Composición de medios de cultivo alternativos.

Tabla 3. Prueba cualitativa de la actividad enzimática de *Cordyceps* sp.

Tabla 4. Tamaño del efecto omega cuadrado parcial (ω^2) del ANOVA bifactorial.

Tabla 5. Prueba cualitativa de la actividad enzimática de *Cordyceps* sp. en medios de cultivo alternativos en base de Avena y Papa.

Lista de anexos

Anexo 1. Activación de la cepa de *Cordyceps* sp.

Anexo 2. Reaislamiento de *Cordyceps* sp en medio PDA.

Anexo 3. Reaislamiento de *Cordyceps* sp. en medio EMA.

Anexo 4. Pruebas de ensayo de los sólidos solubles.

Anexo 5. Concentraciones del diseño de mezcla para cada medio de cultivo alternativo.

Anexo 6. Cálculos de volumen utilizados para el medio base Avena.

Anexo 7. Cálculos de volumen utilizados para el medio base Papa.

Anexo 8. Resultados de la actividad enzimática de *Cordyceps* sp.

Anexo 9. Actividad enzimática con los medios de cultivos alternativo de Avena y Papa.

Anexo 10. Conteo en cámara de Neubauer en medios PDA y EMA.

Anexo 11. Conteo en cámara de Neubauer en medios Papa y Avena.

Anexo 12. Medidas en diámetro (mm) de *Cordyceps* sp. en EMA y PDA.

Anexo 13. Medición del diámetro (mm) de *Cordyceps* sp. en medios de cultivos alternativos.

Anexo 14. Medición del diámetro (mm) de *Cordyceps* sp. en medios de cultivo alternativos.

Lista de figuras

Figura 1. Crecimiento de *Cordyceps* sp. en medio de cultivo PDA.

Figura 2. Crecimiento de *Cordyceps* sp. en medio de cultivo EMA.

Figura 3. Microscopía de *Cordyceps* sp. con azul de lactofenol en medio PDA.1.

Figura 4. Microscopía de *Cordyceps* sp. con azul de lactofenol en medio EMA.

Figura 5. Crecimiento de *Cordyceps* sp. en medio alternativo base de papa.

Figura 6. Crecimiento de *Cordyceps* sp. en medio alternativo base de avena.

Figura 7. Microscopía de *Cordyceps* sp. Con azul de lactofenol en medio alternativo base de Avena.

Figura 8. Microscopía de *Cordyceps* sp. con azul de lactofenol en medio alternativo base Papa.

Lista de graficas

Grafica 1. Diámetro del crecimiento de *Cordyceps* sp. en EMA y PDA.

Grafica 2. Crecimiento del hongo *Cordyceps* sp. en EMA y PDA.

Grafica 3. Crecimiento radial (mm) de *Cordyceps* sp. en medio papa (A) y medio avena (A).

Grafica 4. Diámetro del crecimiento de *Cordyceps* sp en medio Papa y Avena.

Grafica 5. Tasa de crecimiento del hongo *Cordyceps* sp. en Medio Papa (A) y Medio Avena (B).

Grafica 6. Concentración de conidio/ml de *Cordyceps* sp en medio Papa y Avena.

Grafica 7. Concentración de conidio/ml de *Cordyceps* sp en medio PDA y EMA.

Grafica 8. Viabilidad de los conidios germinados en los medios micologicos comerciales PDA, EMA y los medios alternativos de Papa y Avena.

Lista de símbolos y abreviaturas

EMA Agar Extracto de Malta

PDA Potato Dextrose Agar

CMC Carboximetilcelulosa

ABTS ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)

mm Milímetro

% Porcentaje

RESUMEN

El género *Cordyceps* sp. ha sido de gran interés en el campo de la microbiología aplicada debido a su potencial como hongo entomopatógeno capaz de invadir insectos y producir gran variedad de metabolitos bioactivos en la agricultura, farmacéutica y biotecnológica. En condiciones naturales, su ciclo biológico depende de la infección y colonización de insectos hospedadores, donde genera estructuras reproductivas como los conidios, fundamentales para su dispersión y perpetuación; sin embargo, su disponibilidad en estado silvestre es limitada por factores ecológicos, climáticos y la sobreexplotación de su hábitat. Por lo anterior, el cultivo in vitro de *Cordyceps* sp. se ha considerado una alternativa viable para garantizar su producción, enfocándose en la optimización de sustratos y condiciones de cultivo que permitan incrementar un factor crítico. En este contexto, en el presente estudio se evaluaron medios de cultivo alternativos para la producción de conidios de *Cordyceps* sp. Para ello, se realizó la activación y el aislamiento de la cepa, seguidos de su caracterización morfológica y enzimática, así como la evaluación de su crecimiento en medios de cultivo comerciales y alternativos. Posteriormente, se obtuvieron los conidios y se determinó su porcentaje de viabilidad bajo condiciones controladas. Finalmente, los datos obtenidos fueron analizados mediante pruebas estadísticas ANOVA y una prueba de Tukey con un nivel de significación ($p < 0.05$) para analizar los efectos de las diferentes variables. Obteniendo como resultado, que los medios de cultivo alternativos favorecieron significativamente el crecimiento y la esporulación del hongo en comparación con los medios comerciales, destacándose los elaborados a bases de avena, papa, cascarilla de arroz y cuesco de palma, los cuales promovieron tanto el desarrollo micelial como la viabilidad de los conidios. En conclusión, los medios de cultivo alternativos son una opción sostenible, viable y de bajo costo para optimizar la producción de conidios de *Cordyceps* sp., contribuyendo al desarrollo de estrategias biotecnológicas y al aprovechamiento de recursos locales.

Palabras clave. Viabilidad, conidios, crecimiento micelial y medios de cultivo alternativos.

INTRODUCCIÓN

El hongo *Cordyceps* sp. se caracteriza por ser un entomopatógeno capaz de invadir insectos, producir gran variedad de metabolitos bioactivos de mucha importancia en la agricultura, farmacéutica y biotecnológica (Das et al., 2021). Uno de sus productos de mayor relevancia es la cordicepina y polisacáridos con acciones antioxidantes, inmunoestimulantes, anticancerígenas y antiinflamatorias; Por lo que, es de interés su cultivo y aprovechamiento (Kang et al., 2017; Qu et al., 2022).

En condiciones naturales, el ciclo biológico de *Cordyceps* depende de la infección y colonización de insectos hospedadores, donde produce estructuras reproductivas como los conidios, fundamentales para la dispersión y perpetuación del hongo (Bhambri et al., 2022). Sin embargo, la disponibilidad de este recurso en estado silvestre es escasa y limitada, debido a factores ecológicos, climáticos y a la sobre explotación de su hábitat (Tuli et al., 2013).

Por lo anterior, el cultivo in vitro de *Cordyceps* sp. se ha considerado una alternativa viable para garantizar su producción, enfocándose en la optimización de sustratos y condiciones de cultivo que permitan incrementar un factor crítico. Ya que influye en la cantidad y calidad de conidios producidos, así como en la síntesis de sus metabolitos secundarios (Sung et al., 2010; Jian & Li, 2017). Por lo cual, los medios de cultivo alternativos elaborados a base de granos, residuos agroindustriales, productos alimenticios presentan una alternativa económica y sostenible frente a los medios de cultivos sintéticos o comerciales. Los cuales son fuentes de nutrientes esenciales como de carbono y nitrógeno; también contribuyen al aprovechamiento de recursos locales favoreciendo un enfoque de biotecnología sostenible (Condori et al., 2024; Tao et al., 2020).

En este contexto, la presente investigación tiene como objetivo evaluar medios de cultivo alternativos para incrementar la producción de conidios de *Cordyceps* sp., con el fin de optimizar su producción en condiciones controladas y generar aportes para el desarrollo de aplicaciones en las diferentes industrias. De esta manera, se busca contribuir al establecimiento de estrategias de producción más accesibles, sostenibles y eficientes, que permitan potenciar el uso de este hongo entomopatógeno como un recurso de alto valor biotecnológico.

1. Capítulo I

1.1. Problema en estudio

1.1.1. Planteamiento del problema

El género *Cordyceps* es ampliamente reconocido por su importancia biotecnológica debido a la producción de metabolitos bioactivos con aplicaciones en las industrias farmacéuticas, agrícola. Entre sus características más relevantes se encuentra la capacidad de producir conidios, estructuras reproductivas asexuales fundamentales para su dispersión, propagación y uso en procesos de producción industrial, en especial el desarrollo de bioinsumos para el control biológico de plagas (Khan et al., 2018; Mascarin et al., 2018).

A nivel internacional, la producción de *Cordyceps* sp. se ha considerado una actividad de interés para las industrias farmacéutica y agricultura. Sin embargo, uno de los principales obstáculos en su producción a escala radica en la optimización de las condiciones, particularmente en lo relacionado con la formulación de medios que permitan maximizar la producción de biomasa y estructuras reproductivas como los conidios (Oliveira et al., 2015). Estudios recientes han demostrado que la composición del medio de cultivo influye significativamente en la fisiología del hongo, afectando variables como el crecimiento micelial, la esporulación y la viabilidad de las estructuras reproductivas (Zhang et al. 2020).

En este contexto, los medios de cultivo micológicos comerciales como el agar papa dextrosa (PDA), han sido ampliamente utilizados como estándar en estudios micológicos. No obstante, su uso presenta limitaciones, relacionadas con su alto costo y disponibilidad, lo cual restringe su aplicación en procesos de producción a gran escala, especialmente en países en desarrollo (Zhou et al., 2020). Se ha reportado que los costos asociados a los medios de cultivo

pueden representar una proporción significativa del gasto total en procesos biotecnológicos, lo que impulsa la búsqueda de alternativas más económicas y accesibles (Aggarwal et al., 2024).

En Latinoamérica, la investigación en medios de cultivo alternativos ha cobrado relevancia en estos últimos años, enfocándose en el uso de sustratos de origen agrícola como avena, arroz, papa, y residuos agroindustriales. Estos sustratos no solo presentan un menor costo, sino que también pueden aportar nutrientes complejos que favorecen el desarrollo fúngico. No obstante, los resultados reportados son variables y dependen en gran medida de la composición específica del sustrato y de las condiciones de cultivo, lo que evidencia la necesidad de estudios experimentales que evalúen su eficiencia de manera sistemática (Kontogiannatos et al., 2021).

En Colombia, la investigación sobre *Cordyceps* sp. aun es limitada en comparación con otros hongos de interés agrícola, como *Beauveria bassiana* o *Metarhizium anisopliae*. Aunque existen avances en la caracterización y aplicación de hongos entomopatógenos, se identifican vacíos importantes en la optimización de medios de cultivo para la producción masiva de conidios, los cuales son esenciales para su uso como bioinsumos en el control de insectos (Barreras. G 2024; ICA 2024).

En el departamento del Cesar, y particularmente en el municipio de Valledupar, el desarrollo de biotecnologías aplicadas al sector agrícola enfrenta limitaciones asociadas a la disponibilidad de recursos, acceso a insumos especializados y falta de investigaciones locales que permitan adaptar tecnologías a las condiciones específicas de la región. Por ello, el uso de medios de cultivo comerciales puede resultar económicamente inviable para proyectos de producción a pequeña y mediana escala, lo que limita la adopción de alternativas biológicas sostenibles. Adicionalmente, se ha evidenciado que los medios de cultivo alternativos, elaborados a partir de materias primas locales como avena, arroz, papa, y subproductos agrícolas, podrían representar

una solución viable para reducir costos y mejorar la accesibilidad de estos sistemas productivos. No obstante, existen una escasa evidencia científica a nivel local que permita establecer con claridad el efecto de estos medios sobre variables críticas como la producción de conidios, la viabilidad y el crecimiento de *Cordyceps* sp. (Ahsan et al., 2024).

Desde el punto de vista científico, la falta de estudios comparativos entre medios de cultivo comerciales y alternativos representan un déficit en el conocimiento, ya que limita la comprensión de como los diferentes componentes nutricionales influyen en la fisiología y productividad del hongo. Esta situación dificulta la estandarización de protocolos de cultivo y la transferencia de tecnología hacia el sector productivo. En el ámbito aplicado, la ausencia de alternativas validadas de bajo costo impacta directamente en la posibilidad de escalar la producción de *Cordyceps* sp. como bioinsumo agrícola, lo que a su vez limita el desarrollo de estrategias sostenibles para el manejo de plagas y la reducción del uso de agroquímicos. Esto tiene implicaciones tanto económicas como ambientales, especialmente en regiones donde la agricultura constituye una actividad fundamental para la economía local (Shahbaz et al., 2024).

En este sentido, se hace necesario desarrollar investigaciones que evalúen el potencial de medios de cultivos alternativos en producción de *Cordyceps* sp., considerando no solo su capacidad para promover el crecimiento micelial, sino también su efecto en la producción y viabilidad de conidios, los cuales son determinantes para su aplicación en campo.

La presente investigación se delimita geográficamente en el municipio de Valledupar, departamento del Cesar, Colombia, en condiciones de laboratorio del programa de Microbiología de la Universidad Popular del Cesar, y se enfoca en la evaluación experimental de diferentes medios de cultivo alternativos en comparación con un medio comercial. Temporalmente, el estudio se

desarrolló durante el periodo correspondiente al ciclo de crecimiento y esporulación del hongo bajo condiciones experimentales.

En función de lo anterior, se plantea la siguiente pregunta de investigación.

¿Cuál es el efecto de los medios de cultivo alternativos sobre la producción y viabilidad de conidios de *Cordyceps* sp. en comparación con los medios de cultivo micológicos comerciales en condiciones de laboratorio?

1.1.2. Justificación

Actualmente, el género *Cordyceps* ha despertado gran interés científico debido a su capacidad de producir compuestos bioactivos como la cordicepina, polisacáridos y compuestos por propiedades antioxidantes, inmunomoduladores y anticancerígenas. Estas características han impulsado su aplicación en diversas industrias, especialmente en los sectores farmacéutico, cosméticos y agrícola, posicionándolo como un recurso biotecnológico de alto valor (Das et al., 2021; Pelizza et al., 2020).

A nivel internacional, el género *Cordyceps* ha experimentado un crecimiento significativo en el mercado, alcanzando un valor aproximado de 1,52 mil millones de dólares en 2025, con proyecciones de crecimiento hasta 3,91 mil millones de dólares para el año 2034, con una tasa de crecimiento anual superior al 11 % (Fortune Business Insights, 2025). Asimismo, el mercado de extractos de *Cordyceps* continúa expandiéndose debido a la creciente demanda de productos naturales con beneficios terapéuticos, especialmente en países asiáticos como China, Japón y Corea del Sur, donde su producción se ha industrializado mediante sistemas de fermentación a gran escala (Market Growth Reports, 2024). Este crecimiento evidencia la importancia de optimizar los procesos de producción, especialmente aquellos relacionados con la obtención de biomasa y estructuras reproductivas como los conidios.

En Colombia, aunque el uso de hongos con potencial biotecnológico ha sido explorado principalmente en el ámbito agrícola como controladores biológicos, el desarrollo industrial de *Cordyceps* es aún incipiente. Según el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA), en el año 2024 se reportó la comercialización ilegal de productos a base de *Cordyceps*, evidenciando que solo un producto cuenta con registro sanitario en el país (INVIMA, 2024). Esta situación refleja una creciente demanda en el mercado nacional, pero también una limitada capacidad de producción estandarizada, lo que genera dependencia de productos importados y restringe el desarrollo de la industria local.

En el contexto regional, particularmente en el departamento del Cesar, la investigación en biotecnología fúngica es aún limitada, a pesar de la alta disponibilidad de recursos agrícolas que podrían ser utilizados como sustratos alternativos para el cultivo de microorganismos. La región cuenta con una importante producción de cultivos como maíz, arroz y yuca, cuyos subproductos pueden ser aprovechados en la formulación de medios de cultivo de bajo costo, contribuyendo al desarrollo de procesos sostenibles. No obstante, la falta de estudios enfocados en la evaluación de estos recursos para la producción de *Cordyceps* limita su aprovechamiento en aplicaciones industriales. Desde el punto de vista científico, la producción de conidios constituye un aspecto fundamental en el ciclo de vida de *Cordyceps*, ya que estos son esenciales para su propagación, aplicaciones en control biológico y procesos de fermentación industrial. Sin embargo, la eficiencia en la producción de conidios está directamente influenciada por la composición del medio de cultivo, lo que hace necesario evaluar nuevas alternativas que optimicen este proceso (Liu et al., 2021).

Tradicionalmente, los medios de cultivo micológicos comerciales son utilizados por su capacidad para favorecer el crecimiento de hongos, gracias a su composición de carbohidratos (Díaz et al., 2022). Sin embargo, su costo elevado y la disponibilidad limitada de algunos de sus componentes puede representar una barrera para su uso continuo en proyectos de investigación y producción a mayor escala, como en el caso del PDA que tiene un valor aproximado de 162 dólares por 500g, lo que equivale aproximadamente a 600.000 COP por frasco, dependiendo del proveedor. Considerando que para preparar un litro de medio se requieren 39g de PDA, un frasco de 500g permite preparar alrededor de 12 litro de medio. Esto implica un costo aproximado de 50.000 COP por litro de medio preparado, sin incluir costos adicionales como energía, esterilización y materiales de laboratorio.

En este sentido, diferentes estudios han demostrados que el diseño de medios de cultivo alternativos elaborados a partir de productos agrícolas y residuos agroindustriales ofrecen una alternativa viable para el cultivo de microorganismos, debido a que contienen nutrientes esenciales que pueden favorecer el crecimiento fúngico y la producción de conidios. Además, su utilización contribuye al aprovechamiento de recursos locales, al desarrollo de estrategias de producción sostenibles y económica (Zhou et al., 2020). Estos medios reducen los altos costo de producción entre un 50 y 80%, manteniendo o incluso mejorando el crecimiento y la esporulación del hongo.

En este contexto, la presente investigación busca evaluar diferentes medios de cultivo alternativos para incrementar la producción de conidios de *Cordyceps* sp. Aportando información científica que permita optimizar su cultivo en condiciones de laboratorio. Los resultados obtenidos podrían contribuir al desarrollo de métodos de producción más accesibles y sostenibles, favoreciendo el aprovechamiento biotecnológico de este hongo y promoviendo el uso de recursos locales.

1.1.3. Objetivos

1.1.3.1. Objetivo general

Evaluar medios de cultivo alternativos para la producción de conidios de *Cordyceps* sp. en sistemas de sustrato sólido bajo condiciones de laboratorio.

1.1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar el comportamiento de crecimiento de la cepa de *Cordyceps* sp. en medios micológicos comerciales como referencia para la evaluación de medios alternativos.
- Desarrollar medios de cultivo alternativos para la producción de conidios de *Cordyceps* sp. en sistemas de sustratos sólidos.
- Comparar la producción y viabilidad de conidios de *Cordyceps* sp., así como las características del crecimiento del hongo en medios micológicos comerciales y medios alternativos.

1.1.4. Hipótesis

El uso de medios de cultivo alternativos incrementa significativamente la producción y viabilidad de los conidios de *Cordyceps* sp. en comparación con los medios micológicos comerciales.

2. Capítulo II

2.2. Marco teórico

2.2.1. Antecedentes

En los últimos años, el estudio de hongos entomopatógenos del género *Cordyceps* ha adquirido gran relevancia a nivel científico debido a su potencial en la producción de metabolitos

bioactivos y su aplicación en la agricultura sostenible. En este sentido, diversas investigaciones han demostrado que las condiciones de cultivo, especialmente la composición del medio, influyen directamente en el crecimiento micelial y la producción de conidios, lo cual constituye un factor clave para su aprovechamiento biotecnológico.

A nivel internacional, Ordaz-Hernández et al. (2024) evaluaron la producción y calidad de conidios de *Cordyceps javanica* mediante la modificación de condiciones de cultivo en laboratorio, utilizando medios enriquecidos con diferentes fuentes nutricionales. Los autores reportaron un incremento significativo en la producción de conidios al ajustar la composición del medio, destacando que factores como la disponibilidad de nutrientes influyen directamente en la esporulación. Este estudio aporta evidencia sólida sobre la relación entre el medio de cultivo y la producción de conidios; sin embargo, se limita al uso de medios optimizados en laboratorio, sin considerar alternativas basadas en recursos locales, lo cual representa una diferencia con la presente investigación.

Por otro lado, Hu et al. (2024) investigaron estrategias biotecnológicas para mejorar la producción de *Cordyceps militaris*, incluyendo modificaciones en las condiciones de cultivo y manipulación genética. Los resultados destacaron la importancia de optimizar el entorno de crecimiento para maximizar el rendimiento del hongo. Este estudio aporta al enfoque de optimización de condiciones, pero se diferencia en su orientación hacia procesos industriales y biotecnológicos avanzados.

Asimismo, Zeng et al. (2024) analizaron el potencial de *Cordyceps militaris* como plataforma para ingeniería metabólica, evaluando diferentes estrategias de cultivo y producción. Los autores concluyeron que las condiciones del medio influyen directamente en la eficiencia productiva del hongo. Este estudio refuerza la importancia de los factores de cultivo, siendo coherente con el enfoque de la presente investigación, aunque no aborda específicamente medios alternativos de bajo costo.

De manera similar, Turk et al. (2022) evaluaron el crecimiento de especies de *Cordyceps* en sustratos derivados de insectos, empleando estos como fuente nutricional en condiciones experimentales. Los resultados mostraron un incremento en la producción de metabolitos como la

cordicepina, evidenciando que los sustratos no convencionales pueden mejorar el rendimiento del hongo. Este estudio aporta a la presente investigación al demostrar la viabilidad de medios alternativos; sin embargo, se diferencia en el tipo de sustrato utilizado, ya que el presente estudio se enfoca en materias primas de origen vegetal y agroindustrial.

Finalmente, Wu et al. (2021) analizaron los mecanismos biosintéticos de compuestos bioactivos en *Cordyceps militaris*, evaluando diferentes condiciones de cultivo y su relación con la producción metabólica. Los resultados indicaron que factores como la composición del medio y las condiciones ambientales influyen significativamente en la actividad biológica del hongo. Este estudio aporta fundamentos teóricos que respaldan la importancia de optimizar los medios de cultivo, aunque no se enfoca específicamente en la producción de conidios.

Estos estudios internacionales evidencian que el medio de cultivo es un factor determinante en la producción de conidios; sin embargo, también revelan un vacío en investigaciones orientadas al uso de medios de cultivo alternativos basados en materias primas locales, lo cual constituye el principal aporte de la presente investigación.

A nivel nacional, Mesa Acero y Murillo Ruiz (2025) analizaron las propiedades del género *Cordyceps* en la medicina tradicional y occidental, destacando su importancia biotecnológica y farmacológica. Aunque su enfoque no se centra en la producción de conidios, este estudio aporta un contexto general sobre la relevancia del hongo y su potencial de aplicación, lo cual justifica la necesidad de optimizar su cultivo.

Por su parte, Castillo Olarte (2017) evaluó la diversidad genética del hongo *Cordyceps takaomontana* en diferentes ecosistemas de Colombia, utilizando herramientas moleculares para caracterizar su variabilidad. Los resultados evidenciaron una alta diversidad genética, lo cual sugiere la necesidad de estudios orientados a su cultivo y aprovechamiento. Este trabajo aporta información base sobre el hongo en el contexto colombiano, aunque no aborda la producción de conidios ni el uso de medios alternativos.

De igual manera, Figueroa Morales (2018) estudió la actividad inhibitoria de extractos de *Cordyceps nidus*, evaluando su potencial biológico mediante ensayos experimentales. Los resultados demostraron actividad biológica relevante, lo cual resalta la importancia de optimizar

su producción. Este estudio aporta evidencia sobre el valor biotecnológico del género, pero no aborda aspectos de cultivo.

Asimismo, Usme Romero (2017) investigó la obtención de proteína a partir de *Cordyceps militaris* y su aplicación en productos alimenticios. Para ello, utilizó procesos de cultivo y transformación del hongo. Los resultados evidenciaron su potencial como fuente proteica, lo cual destaca la importancia de mejorar su producción. Este estudio se relaciona con la presente investigación en el uso del hongo, aunque no evalúa medios alternativos.

Finalmente, Sanjuán et al. (2001) analizaron la distribución de especies de *Cordyceps* en ecosistemas colombianos y su interacción con insectos, evidenciando su importancia ecológica. Este estudio aporta información sobre la presencia del hongo en el país, pero no aborda su cultivo.

En el contexto regional y local, la información disponible es limitada, evidenciándose una ausencia de estudios específicos sobre la producción de conidios en *Cordyceps* sp. mediante medios de cultivo alternativos. No obstante, repositorios académicos como los de la Universidad de los Andes y bases de datos nacionales como el sistema de MinCiencias reportan investigaciones relacionadas con hongos entomopatógenos y el uso de residuos agroindustriales como sustratos, lo cual respalda la viabilidad de emplear materias primas locales.

Este análisis permite establecer que, aunque existe una base científica sólida a nivel internacional sobre la optimización de medios de cultivo en especies de *Cordyceps*, en el contexto colombiano y especialmente a nivel regional y local persiste un vacío significativo en investigaciones orientadas a la evaluación de medios de cultivo alternativos para incrementar la producción de conidios, lo cual justifica plenamente el desarrollo de la presente investigación.

2.2.2. Bases teóricas

2.2.2.1. *Cordyceps* sp.

El género *Cordyceps* agrupa diversas especies de hongos que pertenecen a la familia Ophiocordycipitaceae, dentro del filo ascomicetos. Existen alrededor de 700 especies descritas en el continente asiático (Das et al., 2021). Las especies del género son de distribución ubicua y

su función principal en la naturaleza es el control biológico de insectos plagas como hongos entomopatógenos. Además, son utilizados en la medicina por su capacidad inmunológica, anticancerígenas, antitumorales, antioxidante, antiinflamatorio y su uso como suplemento deportivo (Liu et al., 2015). El ciclo biológico de *Cordyceps* sp. es complejo debido a su carácter pleomórficos; es decir, la especie pasa por dos etapas de reproducción, es estado sexual de las ascosporas, y las conidias por estado asexual. Lo que significa que su adaptación y desarrollo de sus diferentes estructuras en cada estado, es la clave para la identificación de sus especies (Castillo et al., 2014; Pelizza et al., 2021).

El ciclo de vida de interés para esta investigación será el estado asexual, cual será descrito a detalle en el siguiente numeral.

2.2.2.2. Reproducción asexual de *Cordyceps* sp.

La reproducción de *Cordyceps* sp. es muy compleja, esta se presenta en tres etapas: infección, parasitismo y saprofitismo. Esta se lleva a cabo mediante la conidiogénesis, proceso en el que se forma conidios unicelulares de forma elíptica o cilíndrica, los cuales son estructuras reproductivas especializadas para la dispersión y colonización de nuevos huéspedes. Este tipo de reproducción es muy común en los ascomicetos, los conidios se desarrollan en conidióforos estructuras especializadas que salen en la superficie de los cuerpos fructíferos. La conidiogénesis está influenciada por factores ambientales como la temperatura, la humedad y la luz (Chen et al., 2019; Kumar et al., 2017).

Los conidios son una parte importante en la reproducción y propagación de *Cordyceps* sp., ya que representa su forma asexual y son los principales agentes de diseminación. Los estados conidiogénicos se caracterizan por ser hifas y hialinas, formando micelio y sinemas de colores brillantes como rojo, amarillo y rosado. Estos son ramificados soportando fiálides verticiladas en

forma de botellas; los conidios pueden ser también hialinos y de diversas formas, todo esto les da un aspecto pulverulento blanco (Pérez et al., 2017; Osorio, J. 2018).

2.2.2.3. Actividad enzimática de *Cordyceps* sp.

Las especies del género *Cordyceps* producen una variedad de enzimas hidrolíticas y proteínas bioactivas, que tienen funciones importantes en su ciclo de vida y en sus efectos medicinales. Enzimas como: proteasas, lipasas, quitinasas y amilasas, le ayuda al hongo a degradar el tejido de sus huéspedes, como insectos plagas necesarios para su crecimiento y desarrollo (Trung et al., 2024). La actividad quitinolítica de *Cordyceps* facilita la descomposición de quitina, componente esencial del exoesqueleto de insectos, permitiendo una colonización eficiente. Las proteasas y lipasas producidas también tienen aplicaciones biotecnológicas y en la industria alimentaria. Las enzimas bioactivas de *Cordyceps* tienen beneficios en la salud humana, mejorando la digestión, modulando la actividad inmunológica y ejerciendo efectos antioxidantes. Las nucleasas presentes en algunas especies han mostrado actividad inmunomoduladora y propiedades anticancerígenas (Wu et al., 2022). Las enzimas antioxidantes, como el superóxido dismutasa, combaten el estrés oxidativo, relevante para prevenir enfermedades degenerativas y el envejecimiento celular. Estas características bioquímicas hacen que *Cordyceps* sea candidata para productos nutraceuticos y terapias complementarias (Lin et al., 2023; Xia et al., 2017).

2.2.2.4. Medios de cultivos

Los medios de cultivo constituyen sistemas nutritivos diseñados para favorecer el crecimiento, aislamiento y mantenimiento de microorganismos en condiciones controladas de laboratorio. Estos pueden presentarse en forma líquida, sólida o semisólida, dependiendo de la adición de agentes solidificantes como el agar, lo cual permite el desarrollo y la observación de

características macroscópicas y microscópicas de los microorganismos (Yao et al., 2017). En el contexto de la microbiología aplicada, ha surgido un interés en el uso de medios de cultivo alternativos, definidos como formulaciones elaboradas a partir de sustratos no convencionales, frecuentemente de origen agroindustrial, que buscan sustituir o complementar los medios comerciales tradicionales. Estos medios representan una estrategia para reducir costos y promover la sostenibilidad sin comprometer el crecimiento del microorganismo (Belkoshayev et al., 2025).

En este estudio, se emplean medios de cultivo alternativos formulados a partir de sustratos de origen agroindustrial, con el propósito de evaluar su efecto sobre la producción de conidios de *Cordyceps* sp. bajo condiciones controladas, garantizando la estandarización de los procedimientos y la reproducibilidad de los resultados.

2.2.2.5. Importancia económica, medicinal y en la agricultura de *Cordyceps* sp.

Cordyceps sp. ha adquirido relevancia debido a sus propiedades terapéuticas y valor económico. En la medicina tradicional china, se utilizan como inmunomoduladores, antioxidantes y energizantes naturales, aprovechando su riqueza en cordicepina, un compuesto bioactivo con efectos antitumorales, antiinflamatorios y antivirales (Das et al., 2021). La creciente demanda de *Cordyceps sinensis* y *Cordyceps militaris* ha impulsado su producción, tanto natural como artificial, generando un mercado lucrativo en países asiáticos. Desde una perspectiva económica, el cultivo de *Cordyceps* ofrece oportunidades para agricultores y emprendedores, quienes pueden beneficiarse de la creciente demanda internacional. Además, su papel en el biocontrol de plagas como hongo entomopatógeno promueve prácticas agrícolas sostenibles (Paterson, 2008; Holliday et al., 2005). La producción de *Cordyceps* mediante medios de cultivo alternativos es una opción

viable, económica y ambientalmente sostenible, permitiendo una producción accesible y reduciendo la sobreexplotación de especies naturales.

2.2.2.6. Importancia de la producción de conidios de *Cordyceps* sp.

La producción de conidios es crucial para maximizar el potencial de *Cordyceps* sp. en aplicaciones comerciales y medicinales. Los conidios son una parte importantes en la reproducción y propagación del hongo, son fáciles de manipular y usar en la producción masiva de productos derivados del hongo, como fungicidas para el control biológico de plagas, extractos medicinales entre otros. Por ello, el uso de medios de cultivo alternativos y comerciales es esencial para su desarrollo y satisfacer la creciente demanda de las industrias (Shrestha et al., 2010).

2.2.2.7. Importancia de los medios de cultivos para el desarrollo de *Cordyceps* sp.

Los medios de cultivo comerciales micológico o alternativos son fundamentales para el desarrollo de una producción del hongo. Los medios comerciales ofrecen condiciones estandarizadas y controladas, pero pueden ser costosos especialmente en países en desarrollo o en pequeñas producciones. En cambio, los medios alternativos impactan directamente a la economía local y la accesibilidad de la producción de *Cordyceps* sp. Fomenta una producción más sostenible y económica, reduce la dependencia de insumos externos y promueve prácticas de cultivo más amigables con el medio ambiente (Liang et al., 2020; Zhang et al., 2019).

3. Capítulo III

3.1. Metodología

3.1.1. Tipo y enfoque de investigación

Se desarrollo un estudio experimental en laboratorio, enmarcado en la línea de investigación Bioprospección del programa de Microbiología.

3.1.2. Localización del estudio

Esta investigación se llevó a cabo en el laboratorio de docencia del programa de Microbiología de la Universidad Popular del Cesar ubicada en Valledupar.

3.1.3. Fase I

3.1.3.1. Obtención de *Cordyceps* sp.

Se utilizó cepas de *Cordyceps* sp. obtenidas del laboratorio Cordycol Colombia ubicada en la calera Cundinamarca, Colombia.

3.1.3.2. Activación de la cepa

La activación de la cepa obtenida del laboratorio Cordycol Colombia, se realizó según las instrucciones proporcionadas en el protocolo de activación y expansión descrita por el fabricante. En un cultivo liquido compuesto por 2L de H₂O, 20gr de dextrosa, 10gr de extracto de malta ligera, 2gr de carbonato de calcio, 1gr de yeso; y se le agregó los 20cc del inculo obtenido. Luego, se incubo a 20°C por 5 a 7 días en oscuridad y agitación una vez al día por un minuto (Ver Anexo 1).

3.1.3.3. Reaislamiento de *Cordyceps* sp.

Se llevó a cabo, el reaislamiento de las cepas extrayendo micelio del caldo líquido de la activación. Y se sembró por superficie en los diferentes medios de cultivo: Agar Extracto de Malta (EMA), Agar papa dextrosa (PDA) a 22°C en una incubadora por 7 días bajo las condiciones de esterilidad y oscuridad (Castillo et al., 2018). Pasados los días de incubación se hicieron tres nuevos pases de cada uno a los mismos medios de cultivos (EMA y PDA), tomando una alícuota del aislado de 5,5mm; a partir de la alícuota micelar, se registró el diámetro cada dos días del hongo y se le calculó: la tasa de crecimiento radial. (Ver Anexo 2).

Tabla 1. Composición de los medios de cultivo micológicos comerciales.

Medio de cultivo	Componentes
EMA (Extracto de malta-agar)	Extracto de malta Peptona Agar Maltosa Dextrina Glicerol Agua destilada
PDA (Papa-dextrose-agar)	Infusión de papa Dextrosa Agar Agua destilada

3.1.3.4. Características morfológicas de las cepas de *Cordyceps* sp.

Para la caracterización morfológica de las cepas de *Cordyceps* sp. se utilizó la técnica llevada a cabo por Ou et al., (2019) en su estudio.

3.1.3.4.1. Características macroscópicas

Se realizó mediante la observación de caja de Petri la forma, margen, textura, superficie de la colonia y el tipo de crecimiento que presente el micelio.

3.1.3.4.2. Características microscópicas

Para la caracterización de los estados de los conidios, se realizó montaje en placa con tinción de azul de lactofenol, observando en el microscopio compuesto con el objetivo 40x y 100x las estructuras morfológicas y crecimiento de hifas.

3.1.3.4.3. Características enzimáticas

Para caracterizar enzimáticamente a *Cordyceps* sp. se estudió las actividades proteolíticas, amilolítica, celulolítica. Utilizando medios de cultivo específicos: leche, almidón, carboximetilcelulosa y ABTS para cada actividad.

Las cepas cultivadas anteriormente en medios de cultivo PDA, y EMA, se les extrajo un disco de agar con micelio del hongo, que se utilizó como inóculo. Estos se colocaron en el centro de la placa de Petri que contienen los diferentes medios de agar específicos para evaluar cada una de la presencia de enzimas hidrolíticas del hongo; estas se incubo a 20°C durante 15 días. Donde se observó la presencia de un halo alrededor del hongo para apreciar las actividades enzimáticas. Se realizó tres repeticiones para cada ensayo. Para la actividad proteolítica se esperó que se formará un halo transparente en consecuencia de la degradación de la caseína. Las actividades amilolíticas y celulolíticos también se forma un halo transparente de degradación enzimática. Para la determinación de la actividad celulolítica se utilizó Rojo Congo al 0,15% por 15 minutos, se vaciaron las cajas de Petri y se lavaron con agua destilada y luego se inundaron con NaCl 1M por otros 15 minutos para revelarla. La actividad amilolítica se determinó utilizando reactivo de Lugol

(solución de Y2 al 1% y KI al 0,2%) (Peliza et al., 2021). También, se utilizaron los medios de cultivo alternativos de Avena y Papa para realizar la actividad enzimática proteolíticas, amilolítica y celulolítica. Usando dichos medios y agregándole cada componente referente a la prueba a estudiar.

3.1.4. Fase II

3.1.4.1. Procesamiento de sustratos

Una vez de la recolección de los sustratos (cuesco de palma y cascarilla de arroz), se secaron en un horno a 60°C por 24 horas para reducir la humedad. Posteriormente, se molieron hasta obtener un tamaño de partículas uniformes. Finalmente, se separaron los residuos mediante un tamiz para obtener el residuo orgánico, el cual se almaceno en bolsas plásticas para su posterior uso en la preparación de medios de cultivo alternativos para *Cordyceps* sp.

3.1.4.2. Diseño de medios de cultivo alternativos

Para determinar las condiciones del tratamiento, se empleó un diseño experimental complemente al azar con siete tratamientos correspondientes a diferentes formulaciones de medios de cultivo alternativos. Cada tratamiento se evaluó con tres repeticiones, para un total de 21 unidades experimentales. Las variables independientes fueron la producción y viabilidad de los conidios de *Cordyceps* sp. mientras que las variables dependientes fueron el crecimiento en los medios a base de avena y papa. La unidad experimental correspondió a una placa de Petri inoculada con la cepa de *Cordyceps* sp. a este estudio se le realizo la tasa de crecimiento radial.

Tabla 2. Composición de medios de cultivo alternativos.

Medios de cultivo	Componentes
-------------------	-------------

Papa	Papa (450 g/L) Cascarilla de arroz (333g/L) Cuesco de palma (333g/L) Extracto de levadura (1g/L) Agar (15–20 g/L) Agua destilada
Avena	Avena (100 g/L) Cascarilla de arroz (333g/L) Cuesco de palma (333g/L) Extracto de levadura (1g/L) Agar (15–20 g/L) Agua destilada

3.1.4.3. Preparación de medios de cultivo alternativos

Se realizaron dos medios de cultivo sólidos, uno a base de avena y otro en base de papa. A los cuales, se les adicionaron cascarilla de arroz, cuesco de palma como fuente de carbono y extracto de levadura como fuente de nitrógeno. Para preparar los medios de cultivos de acuerdo con las diferentes concentraciones se tuvo en cuenta los anexos 6 y 7 donde se evidencia cuantos ml de debe tomar para preparar dicho medio de cultivo. A estos medios adicionalmente, se le agrego 1g/L de fuente de nitrógeno (levadura) y 20g/L de agar-agar. Se usó un volumen de 60ml para servir en cajas de Petri por triplicado, se homogenizo y se esterilizo a 121°C por 20 minutos.

3.1.4.4. Inoculación de *Cordyceps* sp. en los diferentes medios de cultivo alternativos

Se tomó de los medios micológicos comerciales un disco y se colocó en el centro de placa de Petri de los medios de cultivo alternativos, se incubo a 22°C y se registró el diámetro cada dos días del hongo y se le calculo: la tasa de crecimiento radial. Por último, se realizó las características

macroscópica y microscópica para comparar con las características morfológicas de los medios de cultivo micológicos comerciales (González et al., 2013; Gamboa. V, 2017).

3.1.4.5. Obtención de conidios

Para la obtención de los conidios se usó Tween 80 estéril al 0,1% y se agregó a los medios de cultivo micológicos comerciales y alternativos, se agito durante 10 minutos, después se filtró con una jeringa que contiene algodón en su interior y se hizo el conteo de conidios en cámara de Neubauer, con un microscopio usando el objetivo 40x (San Juan et al., 2020; Mascarín et al., 2018). Para calcular la concentración de conidios /ml se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración (conidio/ml)} = \left(\frac{\text{total de conidios}}{\text{número de cuadros}} \right) \times \text{Factor de dilución} \times 10^4$$

Donde:

- El factor 10^4 proviene del volumen de cada cuadro de la cámara ($0.1\text{mm}^3 = 10^{-4}\text{ ml}$).
- El factor de dilución depende de la muestra

3.1.5. Fase III

3.1.5.1. Viabilidad de los conidios de *Cordyceps* sp.

Para determinar la viabilidad de los conidios se usará la mencionada por Duran. D, (2017) en su tesis de maestría. El porcentaje se determinó en los medios micológicos comerciales y alternativos. Se sembrará 3 alícuotas de una suspensión de conidios a una concentración de 10^6 conidios/ml, de 10 μL c/u, en la superficie de una caja con los medios de cultivos a utilizar y se incubará a 22°C durante 7 días. Transcurrido el tiempo de incubación, se tomarán 10 μL de azul de lactofenol y se adicionarán. Se obtendrán fragmentos de agar en donde fueron inoculados los

conidios. El porcentaje de germinación se determinará por observación al microscopio contando mínimo de 100 conidios germinados y no germinados, por alícuota en objetivo de 100x. Para calcular el porcentaje de germinación se utilizó la fórmula: Germinación (%) = (Número de conidios germinados \times 100) / Total de conidios evaluados.

3.1.5.2. Análisis estadístico

Las diferencias entre los tratamientos se realizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) por medio de la prueba de Tukey con un nivel de significación ($p < 0.05$) para analizar los efectos de las diferentes variables. Se utilizará el programa Rstudio para realizar todos los análisis estadísticos.

4. Capítulo IV

4.1. Resultados y discusión.

4.1.1. Fase I. Crecimiento en medios de cultivo micológicos comerciales de *Cordyceps sp.*

4.1.1.1. Características Macroscópicas



Figura 1. Crecimiento de *Cordyceps sp.* en medio de cultivo PDA.



Figura 2. Crecimiento de *Cordyceps sp.* en medio de cultivo EMA.

La figura 1 indica el crecimiento de *Cordyceps sp.* en medio PDA con un tiempo de 26 días. Se observó un micelio de color blanco, denso, aterciopelada, forma regular, elevada y, transcurrido el tiempo se visualizó un cambio en la pigmentación en el reverso de color blanquecino amarillento y sus bordes se mantuvieron de color transparente. Por otra parte, en la figura 2 se muestra el crecimiento en medio EMA con un tiempo de 26 días, donde el micelio tuvo coloración blanca, denso, algodonoso con mayor esporulación, forma regular, elevada y al reverso con un pigmento de un color amarillento naranjado.

Estos resultados son similares a lo reportado por Shi et al., (2022) donde especies de *Corrdyceps*, la coloración de las colonias se observó que varían de color blanco a amarillo dependiendo del estado de desarrollo y la producción de metabolitos secundarios. En general, se observaron diferencias en la coloración, textura y uniformidad de las colonias entre ambos medios de cultivo, lo que surge que la composición del medio influye en las características macroscópicas del hongo, tanto en el anverso como en el reverso. Esto se relaciona con los resultados obtenidos de PDA y EMA que se realizaron en esta investigación, donde se logró

evidenciar esa diferencia que hubo entre los dos medios de cultivo donde el EMA tuvo un mejor crecimiento micelial que en el PDA. Además, tuvo una pigmentación más marcada por sus colores que en el PDA.

Por otra parte, los resultados reportados por Moncivais, A. (2021) quien describe características macroscópicas similares en *Cordyceps* sp., tales como forma regular, textura aterciopelada, color de la colonia blanco. Esta similitud surge que el comportamiento morfológico del hongo se mantiene bajo condiciones de cultivos similares y que las descripciones corresponden a las del género.

4.1.1.2 Características Microscópicas

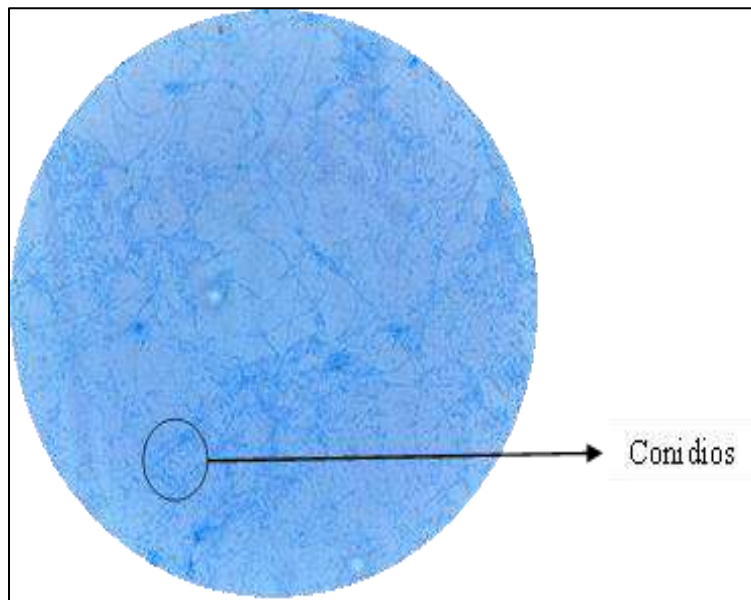


Figura 3. Microscopía de *Cordyceps* sp. con azul de lactofenol en medio PDA.

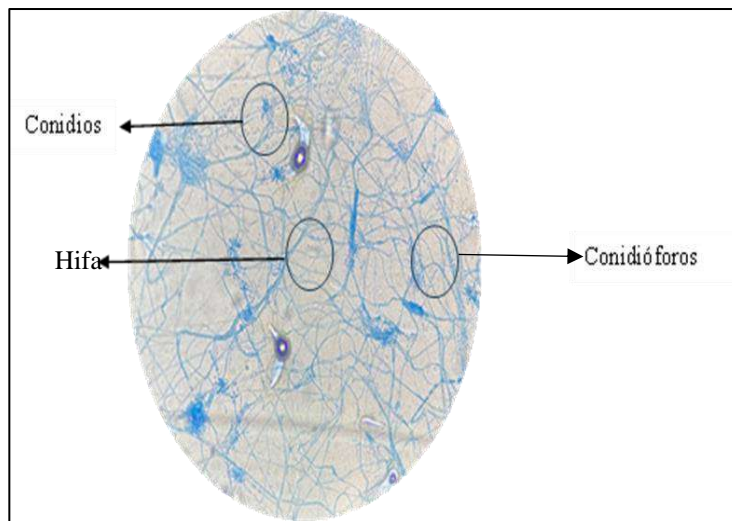


Figura 4. Microscopía de *Cordyceps sp.* con azul de lactofenol en medio EMA.

En la figura 3 se observa conidios de *Cordyceps sp.*, los cuales presentan una forma ovalada y se encuentran formando parte de la red micelial. Asimismo, se identifican estructuras como conidióforos, conidios e hifas finas entrelazadas hialinas en la figura 4. Estas estructuras se visualizaron a los 26 días de crecimiento del hongo en cada medio.

Según, lo descrito por Hoang et al., (2024), en su estudio identificaron estructuras microscópicas del hongo como una red de hifas entrelazadas y conidios en tinción de azul de lactofenol. Estas estructuras típicas del género *Cordyceps* estuvieron presente en nuestros resultados en los medios PDA y EMA. Dado a entender que el tipo de medio no afecta significativamente la morfología del hongo, sino más bien su desarrollo cuantitativo.

4.1.1.3 Caracterización enzimática

Tabla 3. Prueba cualitativa de la actividad enzimática de *Cordyceps sp.*

Actividad	Sustrato en medio sólidos	Indicador	Resultados
Proteolítica	Leche descremada	Halo en el medio	- Sin halo
Amilolítica	Almidón	Lugol (cambio de color)	- Sin aclaramiento
Celulítica	CMC	Rojo Congo + NaCl al 1M (halo en el medio)	- Sin halo
Lacasa	ABTS	ABTS (Cambio de color a verde o halo)	- Sin color y halo

Nota. Los resultados se expresaron de forma cualitativa según la presencia o ausencia de halo o cambios de coloración en los medios suplementados con los sustratos e indicadores específicos. El símbolo (-) indica que es negativo.

Las pruebas cualitativas de actividad enzimática mostraron resultados negativos para las actividades proteolítica, amilolítica, celulítica y lacasa, bajo las condiciones evaluadas. En las pruebas en cajas de Petri no se observaron halos de degradación, ni decoloración alrededor de los inóculos cuando se utilizaron los sustratos convencionales; leche para proteasas, almidón para amilasas, CMC para celulasas y ABTS para lacasa.

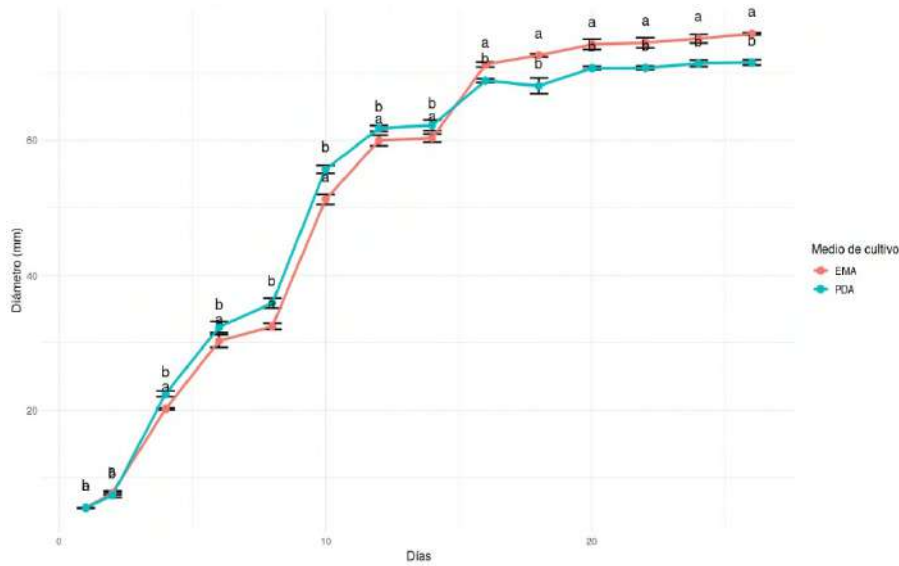
El estudio visual de las cajas de Petri se evidenció crecimiento micelial, sin producción extracelular detectable de las enzimas estudiadas ver anexo 8. Estos resultados se muestran en la tabla 3, donde se registró la ausencia de halos o cambios de color indicativo de actividad enzimática para las muestras.

Los resultados negativos obtenidos en cada una de las pruebas no necesariamente implican ausencia absoluta de capacidad enzimática de *Cordyceps sp.*; puede deberse por otras razones metodológicas y biológicas que afectaron la detección en medios sólidos. La producción de

enzimas extracelulares en hongos es un fenómeno altamente dependiente del ambiente y de la presencia de inductores específicos en el medio de cultivo; como es sabido la síntesis de amilasa suele incrementarse solo cuando existe almidón como fuente de carbono, mientras que las proteasas responden mejor a proteínas lácteas o caseínas como fuente de nitrógeno, y la celulasa se activa en presencia de CMC (Souza et al., 2020; Patel et al., 2021). En este sentido, la ausencia de halos en las placas puede reflejar que el sustrato presente no fue suficiente para inducir la expresión enzimática o que las condiciones de incubación, PH, temperatura y tiempo no fueron las óptimas para la secreción y estabilidad de las enzimas (Kumar & Sharma, 2022). Otro aspecto por considerar es que el propio microorganismo puede poseer un perfil enzimático restringido; no todas las cepas, aun pertenecientes al mismo género, expresan el mismo repertorio enzimático. *Cordyceps* sp. se ha descrito una gran variabilidad en la secreción de enzimas hidrolíticas según la especie y el ambiente (Shrestha & Sung, 2021).

4.1.2. Medición de diámetro en medio de cultivo EMA y PDA.

Grafica 1. Diámetro del crecimiento de *Cordyceps sp.* en EMA y PDA.



Nota: Los diámetros de crecimiento del hongo cada dos días, en medios EMA Y PDA. Los valores corresponden al promedio \pm error estándar ($n=3$).

Tabla 4. Tamaño del efecto omega cuadrado parcial (ω^2) del ANOVA bifactorial.

Factor	ω^2	IC 95%
Medio	0.04	[0.00 – 1.00]
Días	1.00	[1.00 – 1.00]
Medio*Días	0.69	[0.54 – 1.00]

En la gráfica 1, el medio de cultivo EMA presento valores de crecimiento radial ligeramente superior al PDA. Sin embargo, aunque el análisis estadístico evidencio diferencias significativas, en la tabla 4. El análisis de omega cuadrado parcial (ω^2) permitió determinar que, aunque existen diferencias significativas entre los medios de cultivo, la magnitud del efecto es baja ($\omega^2= 0.04$), lo cual indica baja relevancia práctica. El factor tiempo presento un efecto alto ($\omega^2= 1.00$), lo que explica la variabilidad observada en el crecimiento.

Los resultados obtenidos evidenciaron que el medio de cultivo EMA presentó valores de crecimiento radial ligeramente superiores en comparación con el medio PDA. No obstante, aunque el análisis estadístico indicó la existencia de diferencias significativas entre ambos medios, el tamaño del efecto determinado mediante omega cuadrado parcial ($\omega^2 = 0.04$) fue bajo, lo que sugiere que dicha diferencia carece de relevancia práctica. En este sentido, la significancia estadística observada no necesariamente se traduce en un impacto biológico importante sobre el crecimiento del hongo.

Por otra parte, el factor tiempo mostró un efecto considerablemente alto ($\omega^2 = 1.00$), indicando que esta variable explica la mayor proporción de la variabilidad en el crecimiento micelial de *Cordyceps* sp. Este comportamiento es consistente con lo reportado en la literatura reciente, donde se ha establecido que el crecimiento fúngico está fuertemente determinado por el tiempo de incubación y las fases de desarrollo del micelio (Ribeiro et al., 2021). En este contexto, la expansión radial del micelio responde a dinámicas fisiológicas propias del organismo, las cuales se expresan progresivamente a lo largo del tiempo.

Asimismo, se ha descrito que factores como la composición del medio de cultivo pueden influir en la morfología y tasa de crecimiento; sin embargo, su efecto suele ser secundario frente a variables temporales y fisiológicas (Zhang et al., 2022). Esto respalda lo observado en el presente estudio, donde, a pesar de que el medio EMA favoreció ligeramente el crecimiento, esta diferencia no representó un cambio significativo desde el punto de vista práctico.

En el caso específico del género *Cordyceps*, se ha documentado que presenta variabilidad en su crecimiento dependiendo de las condiciones de cultivo, aunque mantiene patrones generales de desarrollo micelial (Shrestha et al., 2021). En concordancia con lo anterior, los resultados

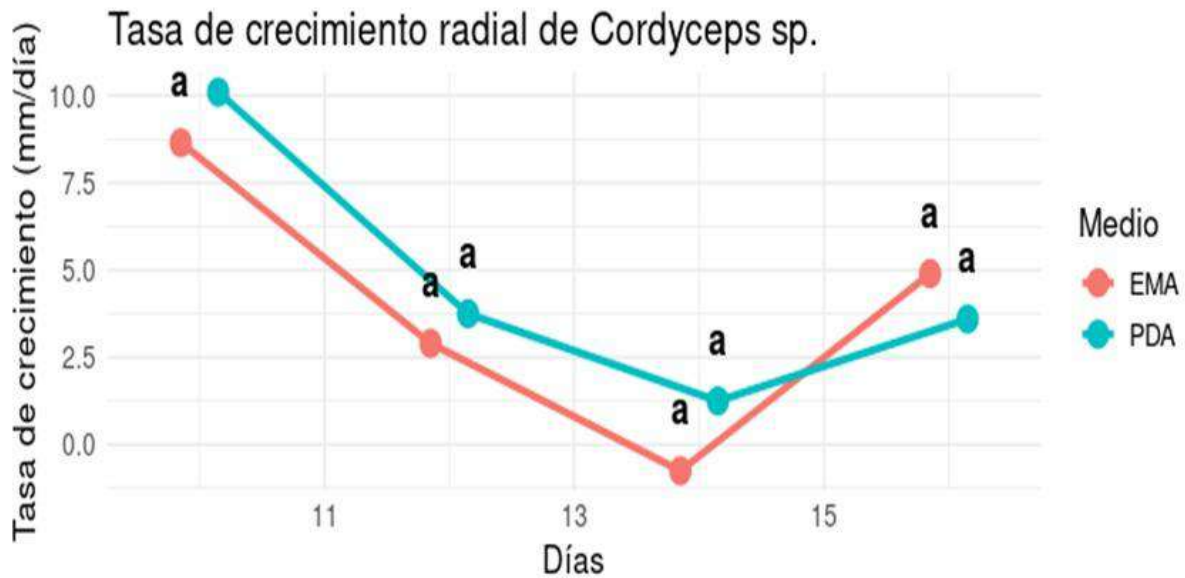
obtenidos sugieren que el medio de cultivo actúa como un factor modulador, mientras que el tiempo de incubación constituye el principal determinante del crecimiento.

En conjunto, estos hallazgos permiten establecer que el crecimiento de *Cordyceps* sp. está predominantemente condicionado por el tiempo, mientras que las variaciones en el medio de cultivo tienen una influencia limitada, lo que aporta un criterio importante para la optimización de condiciones en estudios futuros.

4.1.2.1. Tasa de crecimiento radial de *Cordyceps*

sp. en PDA y EMA.

Grafica 2. Crecimiento del hongo Cordyceps sp. en EMA y PDA.



Nota. La tasa de crecimiento en los medios de cultivos PDA y EMA de *Cordyceps* sp. vs los días.

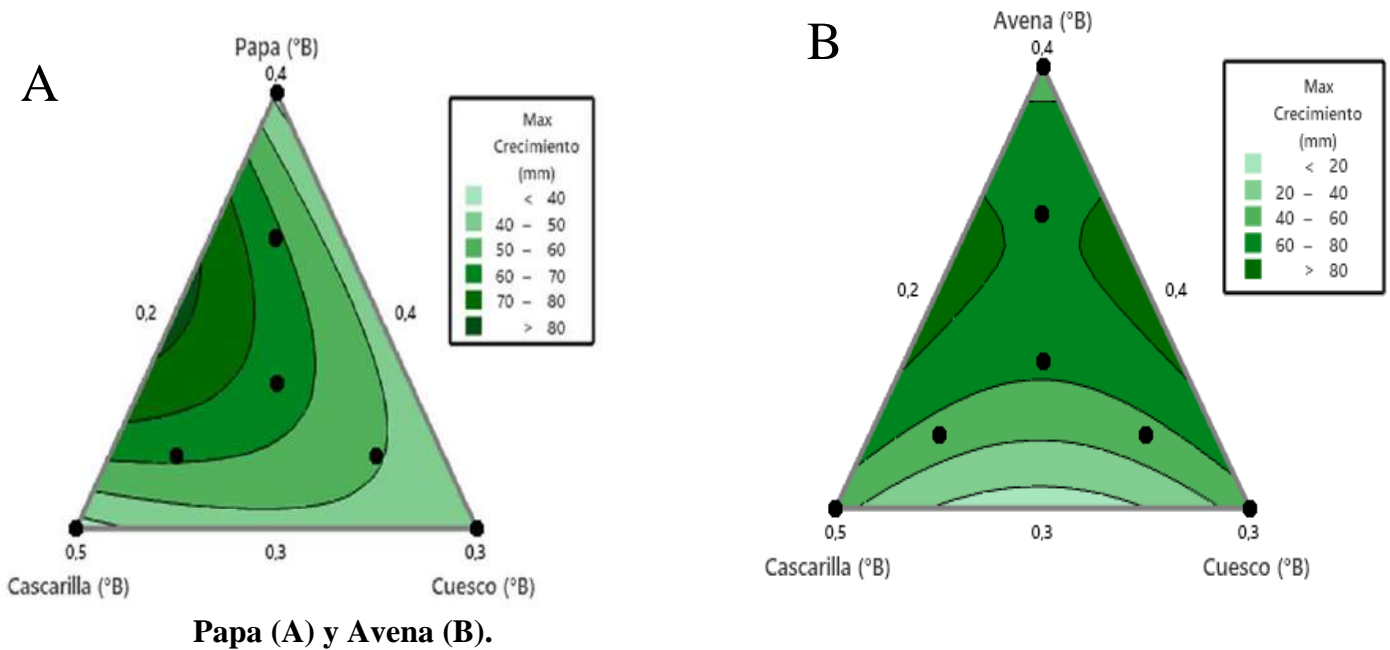
En la gráfica 2, el análisis aplicado a la tasa de crecimiento radial no presentó diferencias significativas entre los medios de cultivo EMA y PDA. Sin embargo, se puede observar que a diferencia de la gráfica 1 el agar PDA tuvo mayor velocidad de crecimiento a diferencia del EMA,

teniendo valores superiores desde el día 3 hasta el día 16 donde se mantuvo su crecimiento, concordando que, aunque el PDA tuvo un crecimiento radial baja, debido a sus componentes de rápida asimilación le permite al hongo aumentar su velocidad de crecimiento, pero en ambos medios, se presentó un valor máximo de velocidad en el día 4, este comportamiento lo explica Grigoriev, I., et al., (2013), demostrando como el crecimiento fúngico en ambientes cerrados, puede limitar el desarrollo del hongo y su disponibilidad de nutrientes. De igual forma, Ramson., et al., (2020), explica como el medio EMA contiene carbohidratos más complejos y fuentes de nitrógeno de liberación lenta, lo que prolonga la fase de crecimiento activo y permite una respuesta más sostenida del micelio. Además, Tian., et al., (2021), con hongos micorrícicos demostró como el PDA favorece una rápida germinación y crecimiento inicial, mientras que EMA sustenta un desarrollo más equilibrado y prolongado.

4.1.2 Fase II Diseño de medios de cultivo alternativos para la producción de conidios de *Cordyceps sp.* en sistemas de sustratos sólidos.

4.1.2.2. Crecimiento radial (mm) en diseño de Mezcla del hongo *Cordyceps sp.* en Medio alternativos de

Grafica 3. Crecimiento radial (mm) de *Cordyceps sp.* en medio papa (A) y medio avena (A).



Nota: Se observa el crecimiento radial (mm) de *Cordyceps sp.* en función de la proporción de componentes del sustrato en un diseño de mezcla: (A) medio papa y (B) medio avena. La escala de color representa la intensidad del crecimiento micelial.

Como se visualiza en la gráfica 3 (A), el crecimiento máximo radial es en el medio que contiene 0,3 °B en papa, 0,4 °B cascarilla y 0,2 °B de cuesco, asimismo en la gráfica 3 (B), con la misma concentración, la diferencia es que la otra concentración con 0,4 °B en avena, 0,4 °B cascarilla y 0,3 °B de cuesco, esto se explica por Drzymała et al. (2020), la cascarilla de arroz y el cuesco de palma, son ricos en fibra y lignina, lo que proporciona una matriz estructural para el crecimiento micelial y podría estimular la producción de enzimas lignocelulolíticas por parte del

hongo. Además, con la avena promueven un crecimiento más rápido y sostenido porque contiene componentes nutricionales fáciles de degradar, y Wu et al. (2020) habla sobre cómo debe haber un balance entre carbohidratos simples y complejos para tener buena eficiencia metabólica y la transición en el transcurso de los días.

4.1.3. Fase III comparación de las características del crecimiento, producción y viabilidad de Cordyceps sp, en medios alternativos.

4.1.3.1 Características macroscópicas



Figura 5. Crecimiento de Cordyceps sp. en medio alternativo base de papa.



Figura 6. Crecimiento de Cordyceps sp. en medio alternativo base de avena.

En las figuras 5 y 6 se observó el crecimiento de *Cordyceps* sp. a los 14 días de incubación. En la figura 5 se evidenció una colonia de color blanco, con textura algodonosa, forma umbonada y bordes irregulares, mientras que en la figura 6 se presentó una coloración blanca con textura algodonosa, crecimiento elevado y bordes regulares.

En comparación con los medios micológicos comerciales, los medios de cultivo alternativos a base de Papa y Avena mostraron una mayor esporulación. En la figura 5, el crecimiento fue más lento en ocupar toda la caja, manteniendo características similares de coloración y textura respecto a lo observado en la figura 1. Por su parte, la figura 6 presentó una coloración y textura algodonosa al igual que la figura 2, pero con un crecimiento más acelerado.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por González, et al. (2021) quienes indican que el crecimiento micelial de *Cordyceps* sp. depende de las condiciones de incubación y de la composición del medio de cultivo, lo que genera variaciones en las características morfológica de las colonias. Por lo tanto, los resultados obtenidos evidencian que la composición del medio de cultivo influye en la dinámica de crecimiento, la producción de conidios y la viabilidad de *Cordyceps* sp. Bajo las condiciones evaluadas, los medios alternativos, particularmente aquellos basados en avena y papa, presentaron un mejor desempeño en comparación con los medios convencionales (PDA y EMA), lo que sugiere que los sustratos naturales complejos proporcionan un entorno más favorable para el metabolismo y la esporulación del hongo.

4.1.3.2 Característica microscópica

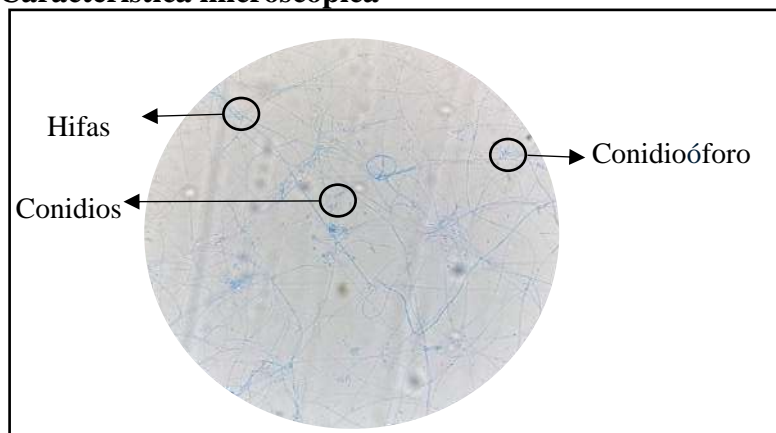


Figura 7. Microscopía de *Cordyceps* sp. Con azul de lactofenol en medio alternativo base de Avena.

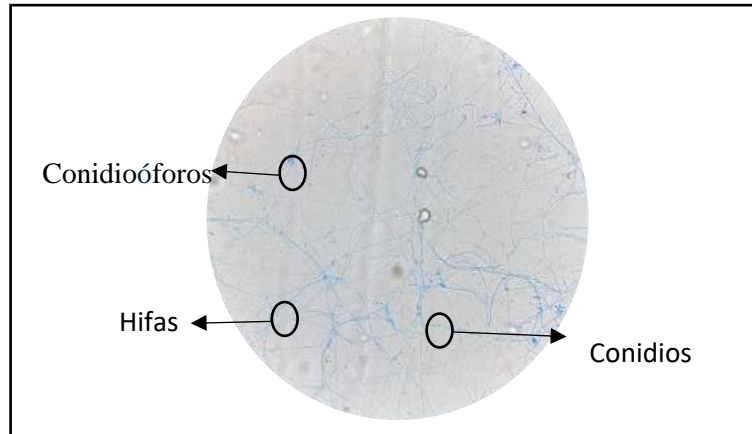


Figura 8. Microscopía de *Cordyceps* sp. con azul de lactofenol en medio alternativo base Papa.

En la figura 7 se observa hifas finas entrelazadas y hialinas, conidioóforos y conidios en todo el campo visual. Además, en la figura 8 se visualizó hifas, conidios y conidioóforos.

Los resultados obtenidos evidencian que el desarrollo morfológico de *Cordyceps* sp. en medios de cultivo alternativos como avena y papa presenta similitudes estructurales con los observados en medios micológicos comerciales como PDA y EMA, lo que sugiere que, a pesar de las diferencias en composición nutricional, estos sustratos son capaces de sostener adecuadamente el crecimiento y la diferenciación del hongo. No obstante, se observó que los medios alternativos favorecen una mayor abundancia y dispersión de estructuras reproductivas, particularmente conidios, en comparación con los medios micológicos comerciales, lo cual puede estar asociado a la disponibilidad y complejidad de las fuentes de carbono presentes en dichos sustratos.

Estos hallazgos son consistentes con lo reportado por Cantillo et al. (2018), quienes describen hifas hialinas lisas (1.2–3.2 μm) y conidióforos ramificados con fiálides que originan conidios elípticos unicelulares, características que se mantienen independientemente del tipo de medio, siempre que se garantice las condiciones de crecimiento en el cultivo.

4.1.3.1. 4.1.3.3 Caracterización enzimática

Tabla 5. Prueba cualitativa de la actividad enzimática de *Cordyceps sp.* en medios de cultivo alternativos en base de Avena y Papa.

Actividad	Sustrato en medio sólidos	Indicador	Resultados
Proteolítica	Leche descremada	Halo en el medio	+ Con halo
Amilolítica	Almidón	Lugol (cambio de color)	- Sin aclaramiento
Celulítica	CMC	Rojo Congo + NaCl al 1M (halo en el medio)	+ Con halo

Nota. Los resultados se expresaron de forma cualitativa según la presencia o ausencia de halo o cambios de coloración en los medios suplementados con los sustratos e indicadores específicos. El símbolo (-) indica que es negativo y el (+) indica positivo.

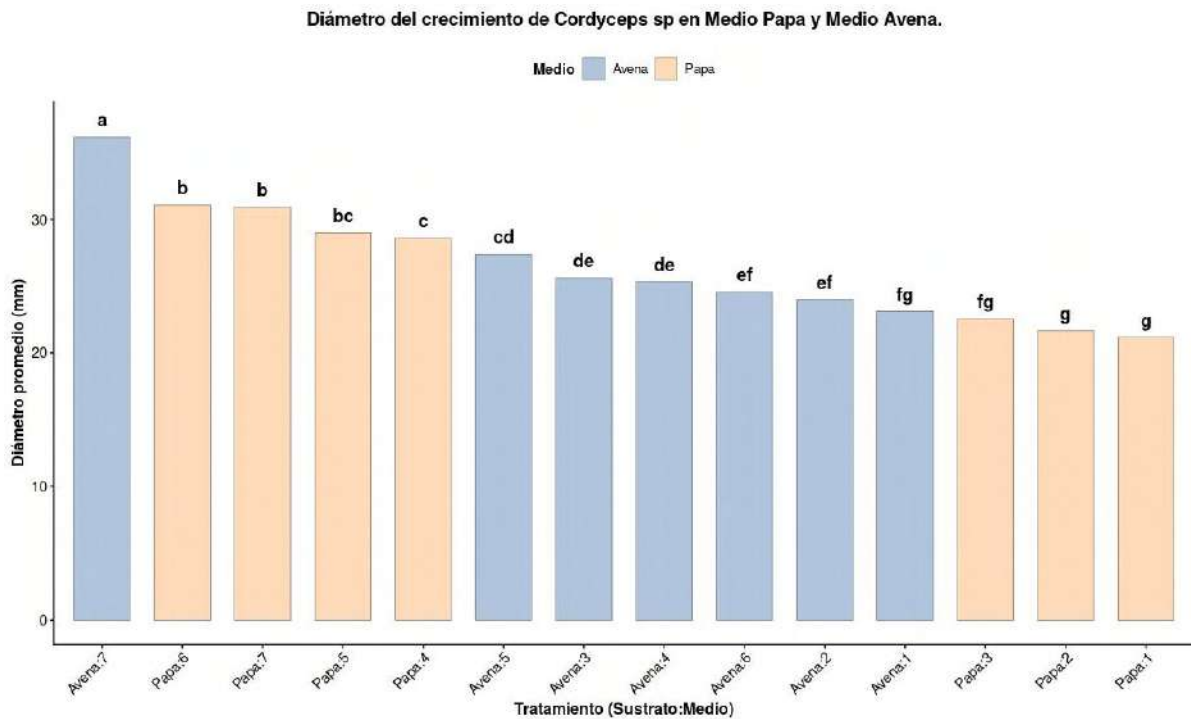
Las pruebas cualitativas de actividad enzimática mostraron resultados positivos para las actividades proteolítica y celulítica bajo las condiciones evaluadas. Sin embargo, dio como resultado negativo en la prueba amilolítica. En el estudio visual se puede evidenciar la placa de Petri con un crecimiento micelial, donde se observaron halos de degradación en las dos pruebas positivas, pero en la negativa no se observó decoloración alrededor de los inóculos en los medios alternativos. Ver anexo 9 Estos resultados se muestran en la tabla 5, donde se registró la ausencia de cambio de color y presencia de halo alrededor del micelio.

Por otro lado, Rojas et al., (2022), mediante su estudio explica como los medios alternativos al contener nutrientes o factores inductores favorecen la síntesis de ciertas enzimas extracelulares, especialmente proteasas y celulasas, lo que ha sido reportado previamente en

estudios de fermentación sólida utilizando sustratos agroindustriales como subproductos vegetales o cereales. De la misma forma, en los medios convencionales según Sigh et al., (2016), comenta como estos medios no favorecen la expresión de enzimas extracelulares señalando que la producción de enzimas hidrolíticas puede depender de la composición nutricional y la disponibilidad de inductores específicos en el medio de cultivo.

4.1.4. Medición de diámetro en medio de cultivo alternativos a base de Avena y Papa.

Grafica 4. Diámetro del crecimiento de *Cordyceps sp* en medio Papa y Avena.



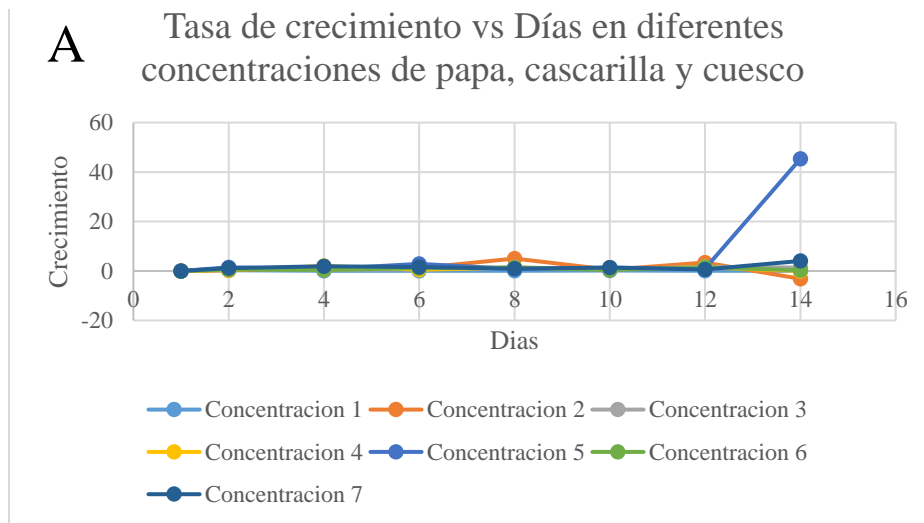
Nota. Crecimiento del diámetro de *Cordyceps sp*. en medios de cultivo alternativos de Papa y Avena vs los días.

En la gráfica 4, se observa que el tratamiento de avena en la concentración 7, que contiene 0,366667ml de Avena, 0,41666ml de Cascarilla y 0,216667ml de Cuesco. Presento un alto crecimiento micelial y mediante la prueba Tukey se evidencio diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, siendo el tratamiento avena 7 quien obtuvo un crecimiento

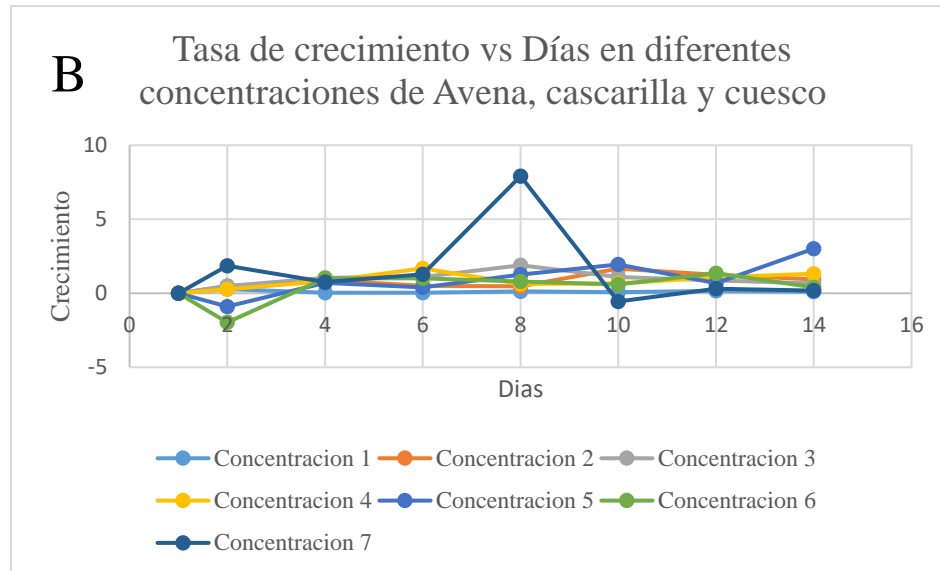
significativamente mayor respecto a los demás tratamientos. Obteniendo el mismo resultado con la investigación de Mahmoud, (2022), donde sugiere que la avena provee carbohidratos, proteínas y micronutrientes que, en sinergia con los componentes lignocelulósicos de la cascarilla y el cuesco de palma, favorecen la síntesis rápida de biomasa y la extensión micelial. La avena es rica en β -glucanos y almidones que actúan como fuentes fácilmente asimilables de energía, así como en compuestos que estimulan la producción de enzimas para la degradación de sustratos complejos, asimismo, Hassan et al. (2016), explica medios suplementados con granos integrales favorecen tanto la velocidad como la cantidad final de biomasa producida, aspectos clave en la fisiología y dando la mejor opción la avena para la producción rápido y vigoroso de conidios y la papa la germinación de los conidios.

4.1.4.1. Tasa de crecimiento radial de Cordyceps sp. en medio alternativos a base de Papa y Avena.

Grafica 5. Tasa de crecimiento del hongo Cordyceps sp. en Medio Papa (A) y Medio Avena (B).



Nota. Tasa de crecimiento de Cordyceps sp. vs los días en las concentraciones de papa, cascarilla de arroz y cuesco de palma.



Nota. Tasa de crecimiento de Cordyceps sp. vs los días en las concentraciones de avena, cascarilla de arroz y cuesco de palma.

En la gráfica A, se presencia el crecimiento del hongo en el sustrato compuesto por papa, cascarilla y cuesco mostrando un comportamiento diferente en cada concentración evaluada. Durante los primeros días (1 día al 4 día), la tasa de crecimiento radial se mantuvo cercana a cero en todos los tratamientos indicando un periodo de adaptación metabólica al sustrato. Luego en los días 6 al 10 se observaron incrementos moderados en algunas concentraciones, destacándose un ligero aumento en la concentración 2 alrededor del día 8. Sin embargo, la mayoría de los tratamientos mantuvieron valores bajos y estables y en los días 12 al 14, hubo un incremento en la concentración 5 en el día 14, teniendo un valor superior al resto de los tratamientos. No obstante, se registraron valores negativos leves en algunas concentraciones, lo que sugiere una disminución en la tasa de expansión radial. Esto lo explica Borkertas et al. (2025), especificando que el crecimiento de hongos filamentosos sobre sustratos sólidos depende de la disponibilidad de carbono fácilmente asimilable, del balance carbono/nitrógeno (C/N) y de la accesibilidad de

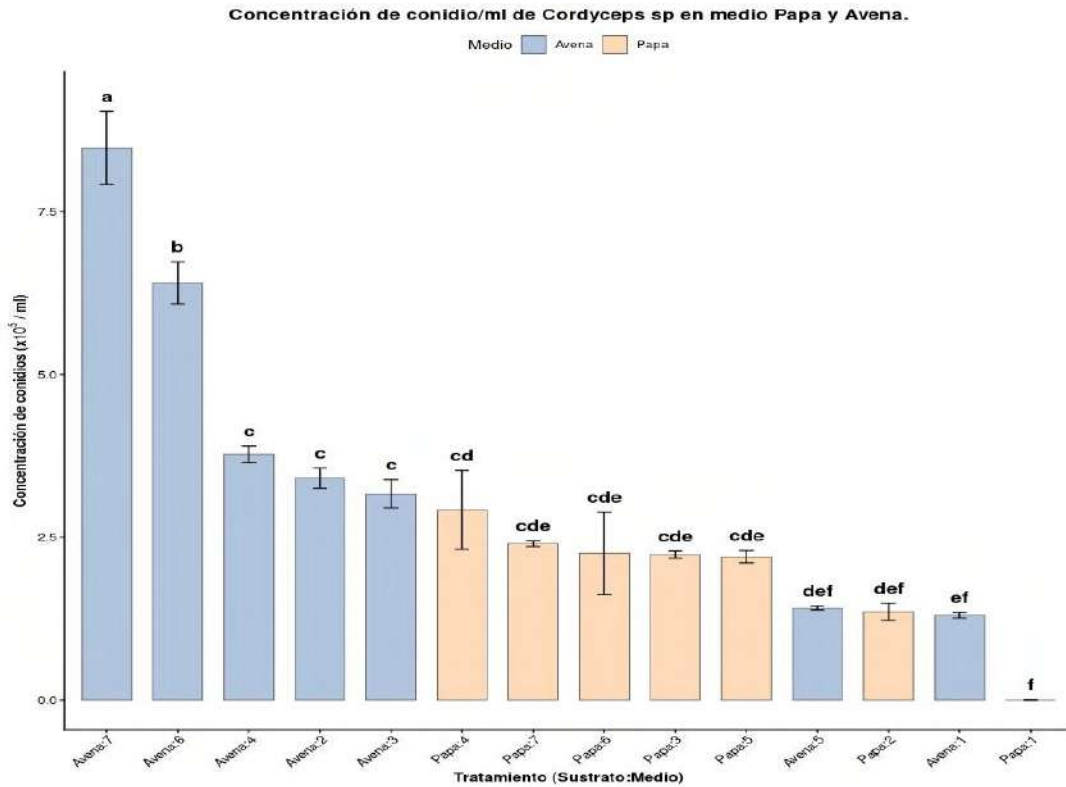
polímeros estructurales como celulosa, hemicelulosa y lignina. Por otro lado, Ren et al. (2024), al combinar los sustratos como papa, la cascarilla y el cuesco, observó una fase de adaptación prolongada y tasa de crecimiento relativamente bajas durante los primeros días. Este comportamiento puede explicarse por la presencia significativa de fracciones lignocelulósicas provenientes de la cascarilla y el cuesco. La degradación de estos polímeros requiere la inducción de sistemas enzimáticos extracelulares, incluyendo celulasas, hemicelulosas y enzimas ligninolíticas como lacasas y peroxidasas. Además, Ribeiro, E., et al., (2025), comentando como el medio enriquecido con papa sugiere que la papa podría estar aportando altas cantidades de carbohidratos simples y compuestos nitrogenados, que favorecen el crecimiento fúngico. Y Queiroz, C., y Sousa, A (2020), los hongos filamentosos muestran mayores tasas de crecimiento cuando el sustrato contiene monosacáridos o disacáridos disponibles inmediatamente, en comparación con polímeros estructurales complejos.

En el caso contrario de la gráfica B, presentó un comportamiento más estable durante los primeros cuatro días, la tasa de crecimiento fue cercana a cero, indicando igualmente una fase de adaptación. Entre los días 6 y 10 se observó un incremento más consistente en varias concentraciones, destacándose un pico en la concentración 7 alrededor del día 8. En los últimos días 12 y 14, las velocidades se estabilizaron sin presentar incrementos extremos, mostrando menor en comparación con el sustrato basado en papa. Li, Y., et al. (2023), en su estudio explica como el sustrato suplementado con avena mostró una cinética más estable y sostenida. Debido a que la avena posee una composición más equilibrada en términos de almidón, proteínas, lípidos y micronutrientes. Además, su fracción de almidón presenta mayor susceptibilidad a la hidrólisis en comparación con otras matrices vegetales. Igualmente, Hassan, Z., et al., (2019), demostró como el medio con avena parece más estable y controlado, lo que podría ser ventajoso para cultivos que

requieren una liberación lenta y sostenida de nutrientes, como en procesos de fermentación sólida. Por un lado, la menor presencia de valores negativos en el sistema con avena podría relacionarse con una menor acumulación de metabolitos secundarios inhibitorios, esto lo muestra Eagan, J., y Keller, N. (2025), en cultivos en sistema cerrado, la acumulación de productos metabólicos puede afectar la extensión radial del micelio y generar desaceleraciones temporales en la tasa de crecimiento.

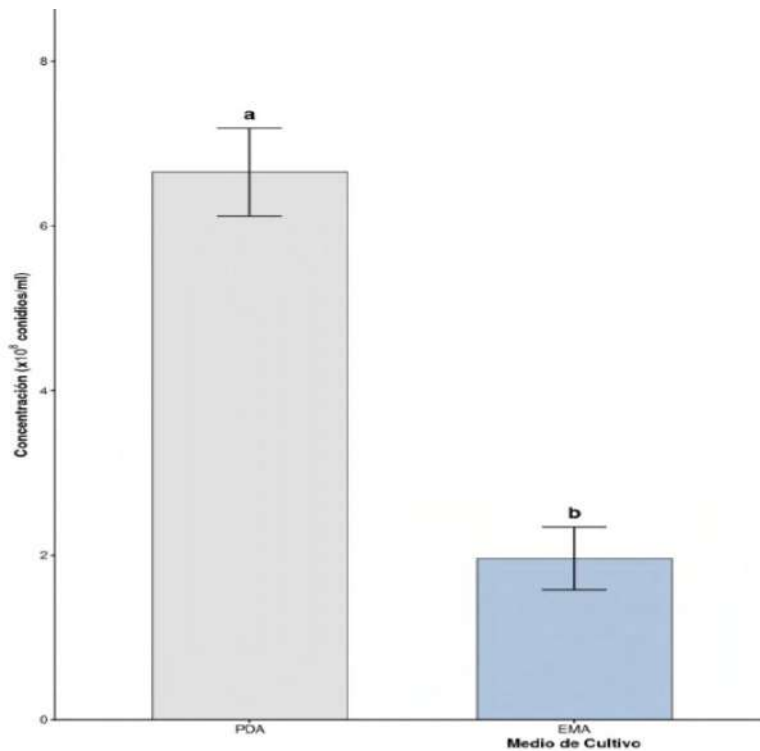
4.1.5. Obtención de conidios

Grafica 6. Concentración de conidio/ml de *Cordyceps sp* en medio Papa y Avena.



Nota. Se evidencia la producción de conidios de *Cordyceps sp*. en función de las diferentes concentraciones de los medios alternativos a base papa (P) y avena (A), observándose un incremento progresivo en los tratamientos con avena específicamente en A6 y A7, lo que sugiere un efecto positivo de este sustrato sobre la esporulación del hongo.

Grafica 7. Concentración de conidio/ml de *Cordyceps sp* en medio PDA y EMA.

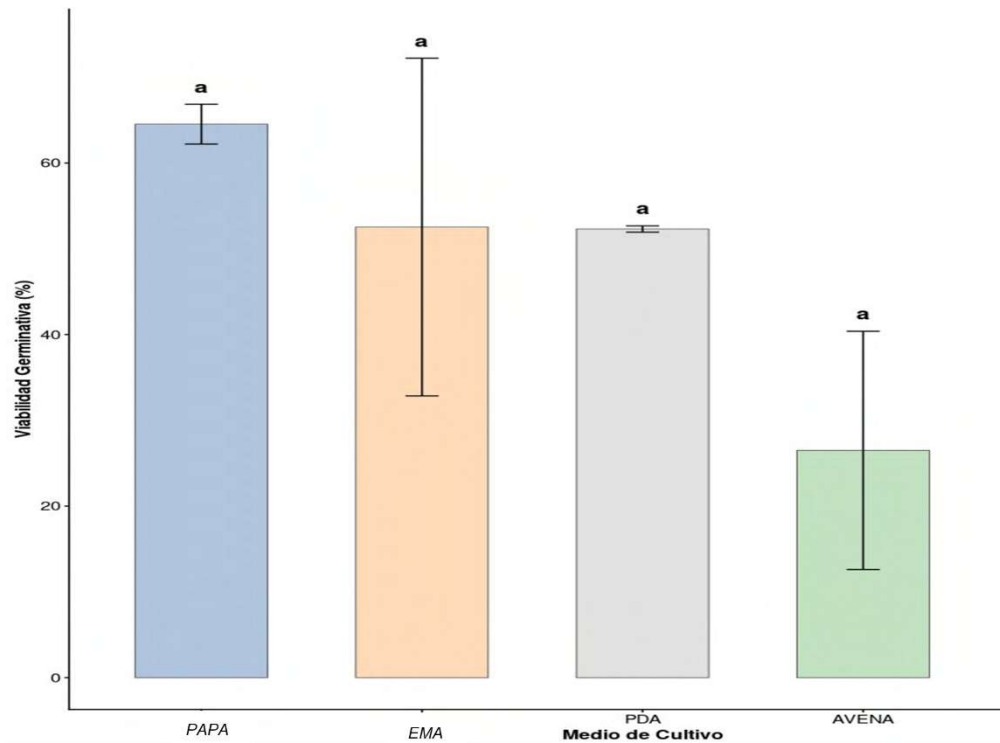


Nota. Se observa la concentración de conidios de *Cordyceps sp*. donde fue mayor en el medio PDA en comparación con el medio EMA, indicando diferencias en la esporulación asociadas al tipo de medio de cultivo.

En la gráfica 7, se observa como en los medios micológicos comerciales se obtuvo mayor producción de conidios en el medio PDA y hubo diferencias significativas. Por otro lado, en los medios alternativos como se observa en la gráfica 6, los medios con avena también presento diferencias significativas entre los tratamientos, concordando que el tratamiento con Avena es la mejor opción para el desarrollo del hongo. Holopainen et al. (2024), explica como la avena, en combinación con cascarilla y cuesco, proporciona un balance nutricional más adecuado para la esporulación, posiblemente debido a su contenido de carbohidratos complejos y proteínas que se liberan de forma progresiva durante el cultivo, estimulando la transición del crecimiento vegetativo a la formación de estructuras reproductivas, presentando un mayor potencial para la producción de inóculos fúngicos, por otro lado, el medio comerciales como el PDA según Wang et al. (2019), comenta como la producción de conidios atribuirse a la composición nutricional del PDA, que contiene fuentes abundantes de carbohidratos simples provenientes de la papa y la dextrosa, lo que favorece un rápido crecimiento vegetativo y estimula la diferenciación hacia estructuras reproductivas como los conidios.

4.1.6. Viabilidad de los conidios

Grafica 8. Viabilidad de los conidios germinados en los medios micologicos comerciales PDA, EMA y los medios alternativos de Papa y Avena.



Nota. La viabilidad de los conidios de *Cordyceps sp.* varía según el medio de cultivo, desecándose con mayor porcentaje de germinación el medio alternativo a base de papa seguido de EMA y PDA, mientras que el medio alternativo de avena presento la menor viabilidad lo que surgiere diferencia en la disponibilidad de nutrientes para el desarrollo del hongo.

Como se observa en la gráfica 8, el que tiene mayor % viabilidad de los conidios germinados fue el medio alternativo de Papa, intermedios los medios micológicos comerciales como EMA y PDA. Siendo el más bajo el de Avena. En el caso de los medios micológicos comerciales, esto se asemeja con la investigación de Ahmad, (2020), donde explica como los medios comerciales EMA al ser un medio más complejo, contiene extractos solubles que promueven tanto el crecimiento vegetativo como la germinación, explicando su rendimiento ligeramente superior al PDA. El medio alternativo Papa, concuerda con la investigación de Ijadpanahsaravi et al. (2020), habla como la papa por su rico contenido de carbohidratos simples y compuestos nitrogenados, que proporcionan energía fácilmente disponible para la activación metabólica de los conidios durante la germinación y la avena contiene polisacáridos estructurales como celulosa y hemicelulosa, los cuales no son fácilmente asimilables en las primeras etapas de germinación, generando un retraso o incluso inhibición en el desarrollo de los conidios.

En general, los resultados de este estudio proporcionan evidencia sólida de que los medios de cultivo alternativos representan una estrategia viable y eficiente para la producción de conidias de *Cordyceps* sp. Las mejoras observadas en el crecimiento, la esporulación y la viabilidad no solo validan su uso a escala de laboratorio, sino que también sugieren su potencial aplicabilidad en contextos industriales y agrícolas, particularmente en el desarrollo de bioinsumos rentables y sostenibles.

5. Capítulo V

5.1. Conclusiones

La evaluación de medios de cultivo alternativos frente a medios comerciales para la producción de conidios de *Cordyceps* sp., permitió evidenciar las diferencias del crecimiento micelial, esporulación y eficiencia productiva. En cuanto a las características macroscópicas y microscópicas, el hongo mostró un desarrollo típico en todos los medios evaluados; sin embargo, en los medios alternativos se observó una mayor densidad micelial, textura algodonosa más pronunciada y una esporulación más abundante, especialmente en el medio a base de papa.

Respecto a la producción de conidios, se determinó que el medio alternativo de papa fue el que favoreció significativamente una mayor esporulación, alcanzando una viabilidad del 70%, lo que quiere decir que es el medio más adecuado dentro de los evaluados para este trabajo. Este resultado sugiere que la composición nutricional de dicho medio, posiblemente enriquecida por los sustratos utilizados (cascarilla de arroz y cuesco de palma), proporcionó condiciones óptimas para la diferenciación y formación de estructuras reproductivas.

En términos de eficiencia, los medios alternativos demostraron un comportamiento superior frente a los medios comerciales, ya que permitieron un crecimiento completo del micelio

en un menor tiempo (14 días) en comparación con los 26 días requeridos por los medios comerciales. Esta diferencia en la velocidad de crecimiento representa una ventaja significativa desde el punto de vista productivo, al reducir tiempos de incubación y potencialmente costos operativos.

No obstante, el análisis estadístico indicó que las diferencias entre los tratamientos no fueron significativamente marcadas, lo que sugiere que tanto los medios comerciales como los alternativos son viables para la producción de conidios de *Cordyceps sp.* Sin embargo, desde una perspectiva práctica y aplicada, los medios alternativos en particular el medio a base de papa presenta ventajas competitivas en términos de rapidez de crecimiento, buena esporulación y accesibilidad de los insumos.

En este sentido, el hallazgo principal de este trabajo radica en demostrar que es posible incrementar o al menos igualar la producción de conidios de *Cordyceps sp.* mediante el uso de medios de cultivo alternativos, sin depender exclusivamente de medios comerciales.

Finalmente, el aporte principal de esta investigación consiste en proponer una alternativa viable, económica y sostenible para la producción de conidios de *Cordyceps sp.*, lo cual tiene implicaciones directas en el desarrollo de biotecnologías aplicadas en las diferentes industrias como la farmacéutica y la agricultura. Este estudio contribuye al aprovechamiento de recursos locales y subproductos agroindustriales, promoviendo estrategias de producción más accesibles y amigables con el medio ambiente. También proporciona información para futuras investigaciones.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda implementar los medios alternativos a base de papa y avena como opción viable para la producción de conidios de *Cordyceps* sp., debido a su eficiencia y menor costo frente a medios comerciales.
- Se sugiere aprovechar sustratos agroindustriales como cascarilla de arroz y cuesco de palma en procesos productivos, promoviendo el uso de residuos y la sostenibilidad.
- Debería considerarse la aplicación de estos medios en la producción de bioinsumos agrícolas, orientados al control biológico y al fortalecimiento de sistemas productivos sostenibles.
- Se recomienda evaluar el efecto de variables ambientales controladas (temperatura, luz y fotoperiodo) para optimizar el crecimiento, la esporulación y la viabilidad del hongo.
- Se sugiere ampliar los rangos de concentración en los diseños de mezcla, con el fin de identificar condiciones óptimas que maximicen la producción y calidad de los conidios.
- Es necesario complementar los análisis con evaluaciones cuantitativas de actividad enzimática y metabolitos, que permitan una mejor interpretación del potencial biotecnológico.
- Se propone investigar la relación entre el tipo de sustrato y la calidad de los conidios, considerando parámetros como viabilidad, resistencia y capacidad de germinación.
- Se recomienda desarrollar estudios sobre la dinámica temporal del crecimiento y la esporulación, para comprender con mayor precisión las fases de desarrollo del hongo.
- Se sugiere evaluar la escalabilidad de los medios alternativos en sistemas piloto o industriales, con el fin de validar su aplicabilidad técnica y económica.

Referencias bibliográficas

- Aggarwal, S., & Kumari, A. (2024). Papel de los hongos en la biotecnología. En *Emprendimiento con microorganismos* (pp. 39-67). Academic Press
- Ahsan, SM, Injamum-Ul-Hoque, M., Das, AK, Rahman, MM, Mollah, MMI, Paul, NC, & Choi, HW (2024). Interacción planta-hongos entomopatógenos: avances recientes y perspectivas futuras sobre la promoción del crecimiento y el biocontrol mediados por endofitismo. *Plants*, 13 (10), 1420. <https://doi.org/10.3390/plants13101420>
- Ahmad, L. (2020). Growth Assessment of Six Wild Syrian Oyster Mushroom Strains (*Pleurotus ostreatus*) on Three Nutrient Media. *Basic and Applied Sciences - Scientific Journal of King Faisal University*. <https://doi.org/10.37575/b/agr/2119>.
- Albrecht Encina, A. B., Albrecht Encina, M. L., Morinigo, K. B., Zapata Montes, N. J., Rebruk, R., & Paniagua, N. G. (2023). Producción artesanal de *Trichoderma* spp. para posible uso en el control biológico sostenible en huertas. *Revista Sobre Estudios E Investigaciones Del Saber académico*, (Encarnación), 17(17): e2023006. Recuperado a partir de <https://revistas.uni.edu.py/index.php/rseisa/article/view/255>
- Allori Stazzonelli, E., Yasem de Romero, M.G., & Ploper, L.D. (2017). Substrate evaluation for *Trichoderma* spore production and rice growth study in TPT03, TPT02, MRT35 and MRT40 antagonist strains. *Revista agronómica del noroeste argentino*, 37(1), 57-66. Recuperado en 30 de octubre de 2024, de https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2314369X2017000100006&lng=es&tlng=en.

- Barrera Cubillos, G. P. (2024). Multifuncionalidad de los hongos biocontroladores y su aporte a la agricultura. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 25(2), 3–5.
<https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v25n2.112585>
- Bhambri, A., Chawla, P., Tomar, P., Singh, G., & Kumar, S. (2022). Nutritional and therapeutic potential of edible mushrooms: A review. *Food Reviews International*, 38(7), 1234–1256.
<https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1775244>
- Belkozhayev, AM, Abaildayev, A., Kossalbayev, BD, Tastambek, KT, Kadirshe, DK, & Toleutay, G. (2025). Valorización microbiana de residuos agrícolas y agroindustriales en celulosa bacteriana: innovaciones para la integración de la bioeconomía circular. *Microorganisms*, 13 (12), 2686.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms13122686>
- Black W. D. (2020). A comparison of several media types and basic techniques used to assess outdoor airborne fungi in Melbourne, Australia. *PloS one*, 15(12), e0238901.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238901>
- Borkertas, S., Viškelis, J., Viškelis, P., Štreimikytė, P., Gasiunaite, U., & Urbonavičienė, D. (2025). Fungal Biomass Fermentation: Valorizing the Food Industry's Waste. *Fermentation*. <https://doi.org/10.3390/fermentation11060351>.
- Castillo Olarte, L. (2014). Evaluación de medios de cultivo para la producción de sinemas y conidios del hongo entomopatógeno *Isaria tenuipes* Peck. Uniandes. Disponible en: <http://hdl.handle.net/1992/16244>
- Castillo Olarte, L. P. (2017). Genetic diversity of the entomopathogenic fungus *Cordyceps takaomontana* in forests and butterfly gardens in Quindío, Colombia [Tesis de maestría, Universidad de los Andes]. <https://doi.org/10.57784/1992/61005>

- Castillo, L. P., Osorio, A., Vargas, N., Sanjuan, T., Grajalas, A., & Restrepo, S. (2018). Genetic diversity of the entomopathogenic fungus *Cordyceps tenuipes* in forests and butterfly gardens in Quindío, Colombia. *Fungal Biology*, 122(9), 891–899. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.funbio.2018.05.003>
- Chen, S., et al. (2019). Optimization of culture medium for *Cordyceps militaris* conidiation. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(5), 731-738.
- Condori Osorio, G., Quispe Huanca, W., & Gutiérrez Ccoyllo, V. (2024). Formulación de medios de cultivo líquidos para la producción de biomasa micelial de hongos entomopatógenos nativos de la región Cusco, Perú. *Revista Q'EUÑA*, 15(1), 27-33.
- Das, G., Shin, H. S., Leyva-Gómez, G., Prado-Audelo, M. L. D., Cortés, H., Singh, Y. D., & Patra, J. K. (2021). *Cordyceps* spp.: A review on its immune-stimulatory and other biological potentials. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 602364. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.602364>
- Díaz-Talamantes, César, Burrola-Aguilar, Cristina, Estrada-Zúñiga, María Elena, & Zepeda-Gómez, Carmen. (2022). Obtención de β -glucanos a partir del micelio del hongo comestible *Gymnopus dryophilus* en dos medios de cultivo. *Información tecnológica*, 33(2), 203-212. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642022000200203>
- Drzymała, K., Mirończuk, A., Pietrzak, W., & Dobrowolski, A. (2020). Rye and Oat Agricultural Wastes as Substrate Candidates for Biomass Production of the Non-Conventional Yeast *Yarrowia lipolytica*. *Sustainability*. <https://doi.org/10.3390/su12187704>.
- Eagan, J., & Keller, N. (2025). Fungal secondary metabolism. *Current Biology*, 35, R503-R508. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2025.02.029>.

Fortune Business Insights. (2025). Cordyceps Militaris Market Size, Share, and Industry Analysis by Form (Powder, Liquid, and Others), By Application (Pharmaceutical, Food & Beverages, Cosmetic & Personal Care, and Others), and Regional Forecast, 2026-2034
Source: <https://www.fortunebusinessinsights.com/cordyceps-militaris-market-112326>

Source: <https://www.fortunebusinessinsights.com/cordyceps-militaris-market-112326>

Gamboa Vargas, J. F. (2017). Caracterización del crecimiento de Cordyceps nidus en diferentes medios de cultivo. Laboratorio de micología y fitopatología de la Universidad de los Andes, Bogotá. 5-29. repositorio.uniandes.edu.co

Gonzalez, J. C., Medina, S. C., Rodriguez, A., Osmá, J. F., Alméciga-Díaz, C. J., & Sánchez, O. F. (2013). Production of Trametes pubescens laccase under submerged and semi-solid culture conditions on agro-industrial wastes. PloS one, 8(9), e73721. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073721>

González Dufau, G. I., Monzón, A., Santamaría Guerra, J., Santo, U., Caballero, S., Castrejon, K., & Sanjur, M. (2021). Caracterización morfofisiológica y molecular de hongos entomopatógenos asociados a Hypothenemus hampei en áreas cafetaleras de la comarca Ngäbe-Buglè. La Calera, 21(36). <https://doi.org/10.5377/calera.v21i36.11555>

Grigoriev, I. V., Nikitin, R., Haridas, S., Kuo, A., Ohm, R., Otilar, R., Riley, R., Salamov, A., Zhao, X., Korzeniewski, F., Smirnova, T., Nordberg, H., Dubchak, I., & Shabalov, I. (2014). MycoCosm portal: gearing up for 1000 fungal genomes. Nucleic acids research, 42(Database issue), D699–D704. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1183>

Hassan, Z., Thani, R., Balmas, V., Migheli, Q., & Jaoua, S. (2019). Prevalence of Fusarium fungi and their toxins in marketed feed. Food Control. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2019.04.045>.

- Hoang, P. (2023). The effects of carbon and nitrogen sources on the growth of *Isaria tenuipes* (Peck.) Samson (DL0099) from LamDong, Vietnam. *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences*. <https://doi.org/10.56511/jipbs.2023.10301>.
- Hoang, C. Q., Duong, G. H. T., Tran, M. H., Vu, T. X., Tran, T. B., & Pham, H. T. N. (2024). Molecular mechanisms underlying phenotypic degeneration in *Cordyceps militaris*: insights from transcriptome reanalysis and osmotic stress studies. *Scientific reports*, 14(1), 2231. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-51946-3>
- Holliday, J., Cleaver, M., & Loomis, D. (2005). The Medicinal Value of *Cordyceps*. *Mycology Today*, 8(1), 12-19.
- Holopainen-Mantila, U., Vanhatalo, S., Lehtinen, P., & Sozer, N. (2024). Oats as a source of nutritious alternative protein. *Journal of Cereal Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2024.103862>
- Hu, Y., Wu, Y., Song, J., Ma, M., Xiao, Y., & Zeng, B. (2024). Advancing *Cordyceps militaris* industry: Gene manipulation and sustainable biotechnological strategies. *Bioengineering*, 11(8), 783. <https://doi.org/10.3390/bioengineering11080783>
- ICA, Instituto colombiano agropecuario. (2024). Bioinsumos una manera natural, inocua y sostenible para la agricultura.
- Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA). (2024). *Alerta sanitaria sobre productos que contienen Cordyceps*. <https://www.invima.gov.co>
- Ijadpanahsaravi, M., Punt, M., Wösten, H., & Teertstra, W. (2020). Minimal nutrient requirements for induction of germination of *Aspergillus niger* conidia. *Fungal biology*, 125 3, 231-238. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2020.11.004>.

- Jian, T., & Li, X. (2017). Artificial cultivation of *Cordyceps militaris* and its applications. *Mycology*, 8(2), 92–102. <https://doi.org/10.1080/21501203.2017.1317810>
- Jiao, S., Peng, Z., Qi, J., Gao, J., & Wei, G. (2021). Linking Bacterial-Fungal Relationships to Microbial Diversity and Soil Nutrient Cycling. *mSystems*, 6. <https://doi.org/10.1128/msystems.01052-20>.
- Kan, W. C., Wang, H. Y., Chien, C. C., Li, S. L., Chen, Y. C., Chang, L. H., ... & Hsieh, C. C. (2014). Effects of *Cordyceps militaris* on fertility and sperm motility in male mice. *The American Journal of Chinese Medicine*, 42(01), 161–172. <https://doi.org/10.1142/S0192415X14500088>
- Kang, C., Wen, T. C., Kang, J. C., Meng, Z. B., Li, G. R., & Hyde, K. D. (2014). Optimization of large-scale culture conditions for the production of cordycepin with *Cordyceps militaris* by liquid static culture. *The Scientific World Journal*, 2014, 510627. <https://doi.org/10.1155/2014/510627>
- Kang, N., Lee, H. H., Park, I., & Seo, Y. S. (2017). Development of high cordycepin-producing *Cordyceps militaris* strains. *Mycobiology*, 45(1), 31–38. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2017.45.1.31>
- Khan, M. A., Tania, M., & Liu, R. (2018). Nutritional composition, health benefits and applications of *Cordyceps* in food and nutraceutical industries. *Journal of Functional Foods*, 47, 376-389. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.06.062>
- Kontogiannatos, D., Koutrotsios, G., Xekalaki, S., & Zervakis, G. I. (2021). Biomass and Cordycepin Production by the Medicinal Mushroom *Cordyceps militaris*-A Review of Various Aspects and Recent Trends towards the Exploitation of a Valuable

- Fungus. *Journal of fungi* (Basel, Switzerland), 7(11), 986.
<https://doi.org/10.3390/jof7110986>
- Kerkaert, J., & Huberman, L. (2023). Regulación de la utilización de nutrientes en hongos filamentosos. *Microbiología Aplicada y Biotecnología*, 107, 5873 - 5898.
<https://doi.org/10.1007/s00253-023-12680-4>.
- Kumar, V., & Sharma, N. (2022). Influence of pH and temperature on extracellular enzyme activity in filamentous fungi. *Journal of Applied Microbiology*, 133(1), 71–83.
<https://doi.org/10.1111/jam.15327>
- Kumar, V., et al. (2017). Cordyceps sinensis: a review of its biology and cultivation. *Journal of Fungi*, 3(3), 39.
- Liang, Z. Q., Kang, L., Liu, A. Y., & Zhang, S. (2020). Production of Cordyceps militaris conidia using agricultural by-products as substrates. *Journal of Fungal Research*, 5(3), 173-179.
- Liu, X., Dong, C., & Chen, S. (2021). Optimization of conidia production in entomopathogenic fungi. *Journal of Fungi*, 7(5), 348. <https://doi.org/10.3390/jof7050348>
- Liu, Y., Wang, J., Wang, W., Zhang, H., Zhang, X., & Han, C. (2015). The Chemical Constituents and Pharmacological Actions of Cordyceps sinensis. Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM, 2015, 575063. <https://doi.org/10.1155/2015/575063>
- Lin, YW, Lee, TM, Chung, CP, Tsai, YC, Huang, DW y Huang, PH (2024). Crecimiento del cultivo de Cordyceps militaris y acumulación de su componente bioactivo según la influencia de varias fuentes de luz de diodos emisores de luz (LED) de longitud de onda única. *International Journal of Food Properties*, 27 (1), 897–908.
<https://doi.org/10.1080/10942912.2024.2373781>

- Li, Y., Luo, D., Li, T., Zhao, W., & Chen, G. (2023). Application of Cellulase for Contributing Phenolic Release and Conversion in Oats (*Avena sativa* L.) During Microbial Fermentation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1-15. <https://doi.org/10.1007/s12010-023-04321-3>.
- Mahmoud, N., Mahdi, A., Barakat, A., & Abdelhameed, R. (2022). Boosting vegetation, biochemical constituents, grain yield and anti-cancer performance of cultivated oat (*Avena sativa* L) in calcareous soil using oat extracts coated inside nanocarriers. *BMC Plant Biology*, 22. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03926-w>.
- Market Growth Reports. (2024). *Cordyceps extract market analysis and forecast*.2-3.175. <https://www.marketgrowthreports.com>
- Mascarin, G. M., Pereira-Junior, R. A., Fernandes, É. K. K., Quintela, E. D., Dunlap, C. A., & Arthurs, S. P. (2018). Phenotype responses to abiotic stresses, asexual reproduction and virulence among isolates of the entomopathogenic fungus *Cordyceps javanica* (Hypocreales: Cordycipitaceae). *Microbiological research*, 216, 12-22. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.08.002>
- Mesa Acero, S. D., & Murillo Ruiz, A. V. (2025). Explorando las propiedades de *Cordyceps* en la medicina tradicional china y occidental. *Biosalud*, 19(1), 104–122. <https://doi.org/10.17151/biosa.2020.19.1.5>
- Moncivais Gómez, A. K. (2022). Caracterización morfológica y cultivo in vitro de una cepa silvestre de *Cordyceps* sp., del Estado de México. 25-69. Tesis de Licenciatura. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/112044>
- Oliveira, Daian. G. P., Pauli, Giuliano., Mascarin, Gabriel. M., & Delalibera, Italo. (2015). A protocol for determination of conidial viability of the fungal entomopathogens *Beauveria*

- bassiana and *Metarhizium anisopliae* from commercial products. *Journal of microbiological methods*, 119, 44-52. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.09.021>
- Osorio Posada, J. (2018). Caracterización Morfológica De *Cordyceps* sp. (Ascomycota: Hypocreales) Aislado De Una Pupa De Mariposa (Insecta: Lepidoptera) Del Mariposario Amaranta De Colombia, Pereira, Risaralda. *UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO*, 63. <https://bdigital.uniquindio.edu.co/handle/001/4983>
- Ou, D., Zhang, L. H., Guo, C. F., Chen, X. S., Ali, S., & Qiu, B. L. (2019). Identification of a new *Cordyceps javanica* fungus isolate and its toxicity evaluation against Asian citrus psyllid. *Microbiologyopen*, 8(6), e00760. <https://doi.org/10.1002/mbo3.760>
- Ordaz-Hernández, A., Montesinos-Matías, R., Mellín-Rosas, M. A., Pérez-Aguirre, T., Loera, O., & Angel-Cuapio, A. (2024). Improvement of the production and quality of *Cordyceps javanica* conidia for the control of *Diaphorina citri* adults. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 40(4), 115. <https://doi.org/10.1007/s11274-024-03922-2>
- Patel, H., Patel, R., & Parmar, H. (2021). Screening and optimization of microbial amylase producers from diverse environments. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 33, 101986. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101986>
- Paterson, R. R. M. (2008). *Cordyceps* – A traditional Chinese medicine and another fungal therapeutic biofactory? *Phytochemistry*, 69(7), 1469-1495.
- Pelizza, S. A., Elíades, L. A., Saparrat, M. C. N., & Cabello, M. N. (2020). Entomopathogenic fungi for pest control: *Cordyceps* spp. as promising candidates. *Biocontrol Science and Technology*, 30(12), 1225–1243. <https://doi.org/10.1080/09583157.2020.1789964>
- Pelizza, S. A., Ferreri, N. A., Elíades, L. A., Galarza, B., Cabello, M. N., Russo, M. L., ... & Lange, C. E. (2021). Enzymatic activity and virulence of *Cordyceps locustiphila* (Hypocreales:

- Cordycipitaceae) on the South American locust *Schistocerca cancellata* (Orthoptera: Acrididae). *Journal of King Saud University-Science*, 33(4), 101411. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101411>
- Pérez-Villamares, Juan Carlos, Burrola-Aguilar, Cristina, Aguilar-Miguel, Xóchitl, Sanjuan, Tatiana, & Jiménez-Sánchez, Esteban. (2017). Nuevos registros de hongos entomopatógenos del género *Cordyceps* s. l. (Ascomycota: Hypocreales) del Estado de México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 88(4), 773-783. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.10.013>
- Petre, A., Ene, M., & Vamanu, E. (2021). Submerged Cultivation of *Inonotus obliquus* Mycelium Using Statistical Design of Experiments and Mathematical Modeling to Increase Biomass Yield. *Applied Sciences*, 11, 4104. <https://doi.org/10.3390/APP11094104>.
- Phoungthong, Khamphe, Waraporn Aiphuk, Tharakorn Maneerat, Thitipone Suwunwong, Patcharanan Choto y Putarak Chomnunti. (2022). Utilization of corncob biochar in cultivation media for Cordycepin production and biomass of *Cordyceps militaris*. *Sustainability*, 14(15), 9362. <https://doi.org/10.3390/su14159362>
- Qu, L., Yang, B., Xu, Y., Zhang, C., & Zhang, Y. (2022). Bioactive metabolites from *Cordyceps* species and their potential applications. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 839704. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.839704>
- Queiroz, C., & Sousa, A. (2020). Produção de enzimas hidrolíticas por fungos filamentosos em diferentes substratos sólidos., 6, 51849-51860. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n7-725>.
- Ransom, C., Jolley, V., Blair, T., Sutton, L., & Hopkins, B. (2020). Nitrogen release rates from slow- and controlled-release fertilizers influenced by placement and temperature. *PLoS ONE*, 15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234544>.

- Ren, F., Wu, F., Wu, X., Bao, T., Jie, Y., & Gao, L. (2024). Fungal systems for lignocellulose deconstruction: From enzymatic mechanisms to hydrolysis optimization. *GCB Bioenergy*, 16. <https://doi.org/10.1111/gcbb.13130>.
- Ribeiro, E., Araújo, E., Penha, M., Nascimento, A., Da Silva, D., & De Cássia Mendonça De Miranda, R. (2025). Optimisation of Potato Dextrose Agar Culture Medium for Actinobacteria Growth. *Microorganisms*, 13. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13030654>.
- Rodríguez-Gómez, L. A., Gandarilla-Pacheco, F. L., Maldonado-Blanco, M. G., Quintero-Zapata, I., Ramos, L. H. M., Alvarez, J. H. A., & Elías-Santo, M. (2017). Evaluación de sustratos naturales para la producción de conidios de *Beauveria bassiana* (bals.) vuill. (hypocreales: cordycipitaceae) en cultivo bifásico. *Interciencia*, 42(11), 739-743. <https://www.redalyc.org/journal/339/33953499006/html/>
- Rojas, V. M. A., Iwanicki, N. S., D'Alessandro, C. P., Faretto, M. B., Demétrio, C. G. B., & Delalibera Jr, I. (2023). Characterization of Brazilian *Cordyceps fumosorosea* isolates: Conidial production, tolerance to Ultraviolet-B radiation, and elevated temperature. *Journal of Invertebrate Pathology*, 197, 107888. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2023.107888>
- Rojas, L. F., Zapata, P., & Ruiz-Tirado, L. (2022). Agro-industrial waste enzymes: Perspectives in circular economy. *Current opinion in green and sustainable chemistry*, 34, 100585.
- Singh, R., Kumar, M., Mittal, A., & Mehta, P. K. (2016). Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. *3 Biotech*, 6(2), 174. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0485-8>
<https://doi.org/10.22517/23447214.17881>
- Rubiano, L. A., Castilla, P. J. F., Pacheco, A. C. C., Rojas, F. J., Pontón, A. J. I., & Jiménez, D. M. R. (2024). Evaluación de la actividad lignocelulolítica de hongos cultivados en

- subproductos de la palma de aceite (*Elaeis guineensis*). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA*, 22(1), 70-86. <https://doi.org/10.18684>
- Shahbaz, M., Palaniveloo, K., Tan, Y. S., Palasuberniam, P., Ilyas, N., Wiart, C., & Seelan, J. S. S. (2024). Entomopathogenic fungi in crops protection with an emphasis on bioactive metabolites and biological activities. *World journal of microbiology & biotechnology*, 40(7), 217. <https://doi.org/10.1007/s11274-024-04022-x>
- San Juan M., Rodríguez Silvia., Cuapio Alejandro., & Barranco Juan. (2020). PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE *Cordyceps fumosorosea* MEDIANTE BIORREACTORES DE COLUMNA. Centro de Investigaciones en OPTICA, A, C.
- Shi, C., Song, W., Gao, J., Yan, S., Guo, C., & Zhang, T. (2022). Enhanced production of cordycepic acid from *Cordyceps cicadae* isolated from a wild environment. *Brazilian journal of microbiology: [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 53(2), 673–688. <https://doi.org/10.1007/s42770-022-00687-4>
- Shrestha, B., & Sung, G. H. (2021). Diversity and biotechnological potential of *Cordyceps* fungi. *Journal of Fungi*, 7(9), 746. <https://doi.org/10.3390/jof7090746>
- Shrestha, B., Zhang, W., Zhang, Y., & Liu, X. (2010). The medicinal fungus *Cordyceps militaris*: Research and development of a valued traditional Chinese medicine. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 16(6), 586-593.
- Souza, P. M., Bittencourt, M. L., Caprara, C. C., de Freitas, M., Almeida, R. P., Silveira, D., & Fonseca, Y. M. (2020). A biotechnology perspective of fungal proteases. *Current Biotechnology*, 9(3), 250–260. <https://doi.org/10.2174/2211550109666191210155922>
- Suarez, J. M. R., Pazmiño, J. P. S., Mendoza, G. A. G., Párraga, M. E. N., & Adrián, H. M. D. (2024). Optimización de Sustratos Sólidos para la Producción de Conidios de *Beauveria*

spp. e *Isaria* spp. *Emergentes-Revista Científica*, 4(2), 611-626. ISSN 2959-7692.
<https://doi.org/10.60112/erc.v4i2.168>

Sung, J. M., Lee, D. K., & Kang, H. W. (2010). Effects of culture media on growth and production of bioactive compounds in *Cordyceps militaris*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(6), 1053–1059.

Tao, Y., Li, Y., Wang, Q., & Zhang, Y. (2020). Effect of nitrogen sources on cordycepin production in *Cordyceps militaris*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(5), 2133–2142. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10312-4>

Tian, F., Liao, X., Wang, L., Bai, X., Yang, Y., Luo, Z., & Yan, F. (2021). Isolation and identification of beneficial orchid mycorrhizal fungi in *Paphiopedilum barbigerrum* (Orchidaceae). *Plant Signaling & Behavior*, 17. <https://doi.org/10.1080/15592324.2021.2005882>.

Trung, Nguyen Quang, Phan Duong Thuc Quyen, Nguyen Thi Thanh Ngoc, and Truong Ngoc Minh. (2024). "Diversity of Host Species and Optimized Cultivation Practices for Enhanced Bioactive Compound Production in *Cordyceps militaris*" *Applied Sciences* 14, no. 18: 8418. <https://doi.org/10.3390/app14188418>

Turk, A., Abdelhamid, M. A. A., Yeon, S. W., Ryu, S. H., Lee, S., Ko, S. M., Kim, B. S., Pack, S. P., Hwang, B. Y., & Lee, M. K. (2022). *Cordyceps* mushroom with increased cordycepin content by the cultivation on edible insects. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1017576. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1017576>

Tuli, H. S., Sharma, A. K., Sandhu, S. S., & Kashyap, D. (2013). Cordycepin: A bioactive metabolite with therapeutic potential. *Life Sciences*, 93(23), 863–869. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.10.026>

- Wang, Z., Miguel-Rojas, C., López-Giráldez, F., Yarden, O., Trail, F., & Townsend, J. (2019). Metabolism and Development during Conidial Germination in Response to a Carbon-Nitrogen-Rich Synthetic or a Natural Source of Nutrition in *Neurospora crassa*. *mBio*, 10. <https://doi.org/10.1128/mBio.00192-19>.
- Wu, X., Wu, T., Huang, A., Shen, Y., Zhang, X., Song, W., & Ruan, H. (2021). New insights into the biosynthesis of bioactive components in *Cordyceps militaris*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 801721. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.801721>
- Wu, C. Y., Liang, C. H., & Liang, Z. C. (2022). Enhanced production of fruiting bodies and bioactive compounds of *Cordyceps militaris* with grain substrates and cultivation patterns. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 132, 104138. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2021.11.005>
- Wu, V., Thieme, N., Huberman, L., Dietschmann, A., Kowbel, D., Lee, J., Calhoun, S., Singan, V., Lipzen, A., Xiong, Y., Monti, R., Blow, M., O'Malley, R., Grigoriev, I., Benz, J., & Glass, N. (2020). The regulatory and transcriptional landscape associated with carbon utilization in a filamentous fungus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117, 6003 - 6013. <https://doi.org/10.1073/pnas.1915611117>.
- Wu, Y., Wen, R., Zhao, Y., & Cheng, Z. (2019). Influence of culture media on the biomass and cordycepin production by *Cordyceps militaris*. *BioMed Research International*.
- Xia, Y., Luo, F., & Shang, Y. (2017). Advances in the cultivation of *Cordyceps militaris* for production of bioactive compounds. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1906.

- Yao, T., & Asayama, Y. (2017). Animal-cell culture media: History, characteristics, and current issues. *Reproductive medicine and biology*, 16(2), 99-117. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12024>
- Zhang, C. B., Ren, C. H., Wang, Y. L., Wang, Q. Q., Wang, Y. S., & Weng, Q. B. (2020). Uncovering fungal community composition in natural habitat of *Ophiocordyceps sinensis* using high-throughput sequencing and culture-dependent approaches. *BMC microbiology*, 20(1), 331. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01994-2>
- Zhang, Y., Li, E., Wang, C., Li, Y., & Liu, X. (2019). Advances in artificial cultivation of *Cordyceps* mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(2), 783-793.
- Zhou, X., Gong, Z., Su, Y., Lin, J., & Tang, K. (2020). *Cordyceps* fungi: Natural products, pharmacological functions and developmental products. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 61(3), 279-291. <https://doi.org/10.1211/jpp.61.03.0002>
- Zeng, J., Zhou, Y., Lyu, M., Huang, X., Xie, M., Huang, M., Chen, B. X., & Wei, T. (2024). *Cordyceps militaris*: A novel mushroom platform for metabolic engineering. *Biotechnology Advances*, 74, 108396. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2024.108396>
- Zhou, X., Gong, Z., Su, Y., Lin, J., & Tang, K. (2020). *Cordyceps* fungi: natural products, pharmacological functions and developmental products. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 72(12), 1619–1636. <https://doi.org/10.1111/jphp.13280>

Anexos

Anexo 1. Activación de la cepa de Cordyceps sp.



Nota. Se muestra medio de cultivo líquido preparado para la activación y expansión de la cepa. Al igual el crecimiento del hongo Cordyceps sp.

Anexo 2. Reaislamiento de Cordyceps sp en medio PDA.



Nota. Se muestra el crecimiento de Cordyceps sp. después de la activación en PDA.

Anexo 3. Reislamiento de Cordyceps sp. en medio EMA.



Nota. Se muestra el crecimiento de *Cordyceps sp.* después de la activación en EMA.

Anexo 4. Pruebas de ensayo de los sólidos solubles.

Muestra	Repetición	°Brix	Cantidad usada	Calculo en litros
Cuesco palma cocido	3	2,2	50g/150ml	333g/1L
		1,8		
		1,9		
Cascarilla arroz cocida	3	3,0	20g/150ml	133g/1L
		2,8		
		3,2		
Avena	3	9,7	90g/150ml	600/1L
		6,3		
		7,4		
Papa	3	3,4		
		3,0		
		2,9		

Nota: se muestra los ensayos realizados para conocer la cantidad en gramos por litro a trabajar para los extractos.

Anexo 5. Concentraciones del diseño de mezcla para cada medio de cultivo alternativo.

Tratamiento	Avena/ Papa (°B)	Cascarilla (°B)	Cuesco (°B)
1	0,300000	0,500000	0,200000
2	0,400000	0,400000	0,200000
3	0,300000	0,400000	0,300000
4	0,316667	0,416667	0,266667
5	0,333333	0,433333	0,233333
6	0,316667	0,466667	0,216667
7	0,366667	0,416667	0,216667

Nota. Las concentraciones arrojadas por el software estadístico MiniTab para los 7 tratamientos en medio de cultivos alternativos papa y avena.

Anexo 6. Cálculos de volumen utilizados para el medio base Avena.

Avena (°B)	Cascarilla (°B)	Cuesco (°B)	Total, parcial	Agua destilada
2,25	10	6	18,25	41,75
3	8	6	17	43
2,25	8	9	19,25	40,75
2,3750025	8,33334	8,00001	18,7083525	41,2916475
2,4999975	8,66666	6,99999	18,1666475	41,8333525
2,3750025	9,33334	6,50001	18,2083525	41,7916475
2,7500025	8,33334	6,50001	17,5833525	42,4166475

Nota. Cantidades en ml utilizados para la preparación de medios de cultivo alternativos avena, para los 7 tratamientos a evaluar.

Anexo 7. Cálculos de volumen utilizados para el medio base Papa.

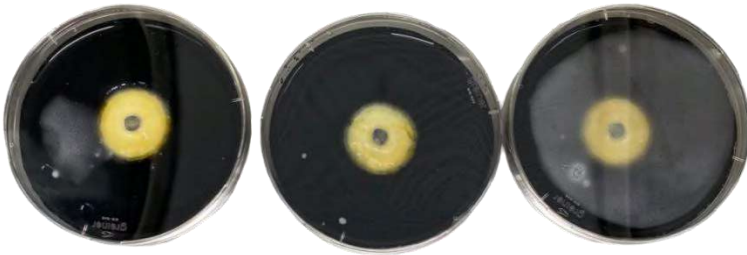
Papa (°B)	Cascarilla (°B)	Cuesco (°B)	Total, parcial	Agua destilada
6	10	6	22	38
8	8	6	22	38
6	8	9	23	37
6,33334	8,33334	8,00001	22,66669	37,33331
6,66666	8,66666	6,99999	22,33331	37,66669
6,33334	9,33334	6,50001	22,16669	37,83331
7,33334	8,33334	6,50001	22,16669	37,83331

Nota. Cantidades en ml utilizados para la preparación de medios de cultivo alternativos papa, para los 7 tratamientos a evaluar.

Anexo 8. Resultados de la actividad enzimática de *Cordyceps* sp.



Nota. proteolíticas (leche).



Nota. Aminolítica (Almidón).



Nota. celulolítica (CMC).



Nota. Lacasa (ABTS).

Anexo 9. Actividad enzimática con los medios de cultivos alternativo de Avena y Papa.



Nota. proteolíticas (leche).



Nota. Aminolitica (Almidón).



Nota. celulolítica (CMC).

Anexo 10. Conteo en cámara de Neubauer en medios PDA y EMA.

Medio de cultivos	Muestra	Promedio conidio (5 cuadros)	Concentración (conidio/ml)
PDA	1	35,4	3.54x10 ⁸
	2	61,6	6.16 x10 ⁸
	3	77,2	7.72x10 ⁸
EMA	1	60,8	6.08x10 ⁸
	2	23,4	2.34x10 ⁸
	3	15,8	1.58x10 ⁸

Anexo 11. Conteo en cámara de Neubauer en medios Papa y Avena.

Medio de cultivos	Concentración de maestro	Maestro	Promedio conidio (5 cadres)	Conidio/ml
Papa (Medio artesanal)	1	1	0	0
		2	0	0
		3	0	0
	2	1	15.4	1.54x10 ⁵
		2	11	1.1x10 ⁵
		3	14.2	1.42x10 ⁵
	3	1	22	2.2x10 ⁵
		2	21.6	2.16x10 ⁵
		3	23.4	2.34x10 ⁵
	4	1	40.6	4.06x10 ⁵
		2	20	2.0 x10 ⁵
		3	27	2.7x10 ⁵
	5	1	23.8	2.38x10 ⁵
		2	20.6	2.06x10 ⁵
		3	21.6	2.16x10 ⁵
	6	1	23.2	2.32x10 ⁵
		2	11.2	1.12x10 ⁵
		3	33.2	3.32x10 ⁵
	7	1	23.2	2.32x10 ⁵
		2	24.6	2.46x10 ⁵
		3	24.2	2.42x10 ⁵
Avena (Medio artesanal)	1	1	13.6	1.36x10 ⁵
		2	12.2	1.22x10 ⁵
		3	13.2	1.32x10 ⁵

	2	1	31.6	3.16×10^5
		2	33.6	3.36×10^5
		3	37	3.7×10^5
	3	1	29.2	2.92×10^5
		2	36	3.6×10^5
		3	29.8	2.98×10^5
	4	1	40	4.0×10^5
		2	35.6	3.56×10^5
		3	37.6	3.76×10^5
	5	1	13.6	1.36×10^5
		2	14.2	1.42×10^5
		3	14.6	1.46×10^5
	6	1	57.6	5.76×10^5
		2	67.6	6.76×10^5
		3	67	6.7×10^5
	7	1	73.6	7.36×10^5
		2	89.8	8.98×10^5
		3	91	9.1×10^5

Anexo 12. Medidas en diámetro (mm) de Cordyceps sp. en EMA y PDA.

Día	EMA			PDA		
	1	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5
2	7.21	8.30	7.69	6.97	8.09	7.08
4	20.0	20.1	20.4	23.3	22.0	22.0
6	31.2	28.34	31.19	31.03	33.82	32.07
8	31.6	33.0	32.7	36.5	34.4	36.7
10	50.0	51.1	52.6	56.9	55.1	55.1
12	58.4	60.9	60.6	62.6	61.4	61.3
14	59,1	61.0	60.9	63.8	61.4	61.5
16	70.7	71.1	71.9	68.7	69.4	68.4
18	72.2	73.0	72.6	65.9	69.9	68.4
20	75.6	74.1	73.0	70.2	71.0	70.9
22	75.8	74.4	73.2	70.2	71.1	70.9
24	75.8	75.6	73.8	70.6	72.2	71.4
26	76.1	75.7	75.6	70.9	72.2	71.5

Nota. Se midió cada dos días el diámetro del hongo, evidenciando que en el medio EMA hubo un incremento que en el medio PDA.

Anexo 13. Medición del diámetro (mm) de Cordyceps sp. en medios de cultivos alternativos.

Día	Concentración de muestra	PAPA			AVENA		
0	0	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5
1	1	10.2	12.4	11.9	12.8	11.6	11.9
	2	13.8	11.7	14.3	15.6	15.1	14.9
	3	15.2	12.9	15.4	16.9	16.6	15.8
	4	16.2	15.0	17.5	19.0	18.8	17.0
	5	15.9	16.0	16.8	18.7	17.5	18.7
	6	16.8	15.9	15.1	19.2	17.8	17.4
	7	13.8	16.4	15.7	20.0	19.2	18.7
2	1	14.6	16.8	15.0	16.9	15.8	15.3
	2	15.2	12.8	15.6	17.9	17.5	16.8
	3	16.0	14.9	16.7	18.0	17.8	16.9
	4	16.9	15.3	18.2	19.5	19.0	17.3
	5	16.5	16.9	17.8	19.0	17.8	17.2
	6	17.0	16.7	15.6	19.7	18.5	18.0
	7	14.5	16.8	16.2	21.5	20.7	19.3
4	1	16.0	18.7	17.6	18.6	16.9	16.5
	2	16.8	15.8	16.9	19.0	18.7	18.3
	3	16.7	16.2	16.9	19.9	18.8	18.0
	4	18.7	16.6	19.9	21.0	19.8	18.4
	5	17.1	17.4	20.2	19.5	18.8	18.0
	6	17.4	17.1	16.2	20.1	19.9	18.6
	7	15.8	17.7	16.6	22.3	21.5	19.7
6	1	19.1	20.2	19.7	19.5	18.5	18.3
	2	19.0	18.2	19.6	19.7	19.5	19.1
	3	18.8	17.0	19.1	20.8	19.9	18.6
	4	19.2	18.9	19.9	23.0	20.9	19.9
	5	19.7	20.9	22.6	20.5	18.9	18.6
	6	21.3	20.6	18.3	21.5	19.9	19.0
	7	21.2	23.1	21.7	23.6	22.4	20.0
8	1	20.2	21.5	20.9	24.8	24.7	24.0
	2	22.1	25.3	29.1	22.8	22.2	21.1
	3	28.4	25.6	29.8	26.2	24.2	24.8
	4	35.7	29.9	39.5	26.7	23.9	23.5
	5	30.3	34.2	36.5	24.0	23.2	22.9
	6	39.5	37.8	36.2	24.2	23.9	22.1
	7	40.0	40.6	37.0	25.5	24.6	22.3
10	1	31.3	32.6	32.0	28.7	28.6	26.5
	2	31.9	31.6	33.2	28.5	27.6	26.1
	3	34.1	26.5	35.3	34.2	32.8	28.6
	4	40.2	34.0	42.2	28.6	28.2	30.0

	5	37.2	39.5	39.6	32.8	30.5	31.9
	6	45.0	39.1	36.4	29.5	27.5	27.3
	7	40.6	45.2	41.6	68.6	65.2	62.4
12	1	33.0	33.5	33.1	39.6	39.1	35.3
	2	36.0	34.2	39.7	42.3	39.3	39.1
	3	49.7	28.0	41.3	46.8	44.6	41.4
	4	54.2	50.4	56.0	42.3	40.7	40.5
	5	50.8	51.5	54.4	41.2	41.1	38.5
	6	70.5	58.8	57.6	39.3	38.8	38.4
	7	55.5	57.8	55.9	75.3	71.2	70.1
14	1	34.4	35.5	34.3	48.6	47.7	47.2
	2	31.3	30.0	34.0	51.2	49.7	49.0
	3	36.6	25.0	36.0	53.4	51.2	48.7
	4	56.4	47.3	57.3	50.5	50.1	48.6
	5	55.0	56.2	63.7	73.7	69.8	70.0
	6	66.4	65.5	61.5	49.7	48.3	47.5
	7	55.4	70.1	68.8	76.2	75.6	73.6

Anexo 14. Medición del diámetro (mm) de Cordyceps sp. en medios de cultivo alternativos.

Medio de cultivos	Maestro	Total, de Conidios contados	Total, de Conidios germinados	% Viabilidad	Promedio
PDA	1	161	80	49.68	% 51.59
	2	149	79	53.02	
	3	167	87	52.09	
EMA	1	83	43	51.80	% 60.14
	2	63	38	60.31	
	3	60	41	68.33	
PAPA	1	77	50	64.95	% 69.75
	2	87	65	74.71	
	3	102	71	69.60	
AVENA	1	256	34	13.28	% 21.653
	2	230	29	11.30	
	3	52	21	40.38	