

21. Productos naturales bioactivos y sus aplicaciones.

Fermentación en sustrato líquido: evaluación de aislamientos argentinos de *Metarhizium spp.*, y eficacia de sus blastosporas en el control de *Blattella germanica*.

Autor: Lozano Francisco; lozanof@cepave.edu.ar

Orientadores: Rivas Franco Federico, frivas@inia.org.uy; Gutierrez Alejandra C.,
gutierrez@cepave.edu.ar

Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE)(CONICET-UNLP-CIC),
La Plata (1900), Argentina

Resumen

El uso de químicos sintéticos ha sido el método principal para controlar insectos plaga, y las cucarachas, que son una de las plagas urbanas más importantes a nivel mundial, han desarrollado resistencia a estos insecticidas. Los hongos entomopatógenos (HE) son una excelente herramienta que debe ser incorporada en planes de manejo integrado de plagas. Los formulados comerciales basados en HE encontrados en el mercado son principalmente formulados a partir de conidios. Las blastosporas se producen durante el ciclo de infección del HE en el hemocele del insecto; además se pueden obtener fermentando al HE en sustrato líquido sintético. La producción de blastosporas presenta ventajas como tiempos de producción más cortos y mayor control sobre los parámetros de fermentación. El objetivo del presente trabajo es evaluar la producción de blastosporas de diferentes aislamientos nativos de *Metarhizium brunneum* y *M.*

robertsii en medio de cultivo líquido, y su patogenicidad utilizando como especie blanco a la cucaracha urbana *Blattella germanica*.

Dos aislamientos nativos de Argentina de *M. robertsii* (CEP823 y CEP824) y cuatro de *M. brunneum* (CEP005, CEP350 CEP578 y CEP593) se han fermentado en medio líquido Adamek por 96 horas. Los datos de fermentación fueron analizados mediante ANOVA y prueba HSD de Tukey, mientras que los datos de patogenicidad fueron analizados con curvas de supervivencia de Kaplan-Meier y pruebas pareadas de log-rank, ajustando posteriormente los valores p para control FDR.

Todos los aislamientos, excepto CEP005 y CEP578, crecieron y produjeron diferentes concentraciones de blastosporas desde las 48 hs de fermentación. Las concentraciones obtenidas, con mínimo de 4,33E+06 blastosporas/mL (CEP593, 96 hs) y máximo de 6,49E+08

blastosporas/mL (CEP824, 96 hs), mostraron diferencias no significativas frente al tiempo; más la diferencia de concentraciones entre aislamientos sí fue significativa, siendo CEP824 = CEP823 > CEP350 > CEP593. Las evaluaciones de patogenicidad frente a la cucaracha alemana *Blattella germanica* muestran que la aplicación de las blastosporas de los cuatro aislamientos evaluados son capaces de reducir significativamente la supervivencia de estos insectos, hasta por debajo del 30% al día 20 (CEP350). No se encontraron diferencias entre las curvas de supervivencia de los tratamientos. Finalmente, el hongo logra emerger y esporular desde, como mínimo, el 68% de los cadáveres de cucaracha en cámara húmeda. Este trabajo es el primer reporte de aislamientos de *Metarhizium brunneum* como patógeno de cucarachas. Se continuará estudiando estos aislamientos, su respuesta frente a otros medios de cultivo con distintas eficiencias de producción, su estabilidad de almacenamiento, y su posible aplicación en el control de cucarachas.

Introducción

El uso de químicos sintéticos ha sido el método principal para controlar insectos plaga en la agricultura, así como en entornos urbanos y residenciales. Las cucarachas son una de las plagas urbanas

más importantes a nivel mundial. El uso de Hongos Entomopatógenos se ha convertido en una alternativa de gran potencial para el control de cucarachas dentro de un plan de manejo integrado de plagas, principalmente porque estos insectos han desarrollado resistencia a insecticidas de síntesis química (Dashti, Gholizadeh, Zaim, Baniardalani, & Basseri, 2024; Pai, Chang, Lin, & Hsu, 2023).

Desde el siglo XIX que los hongos entomopatógenos son producidos para controlar poblaciones de insectos plaga (Lord, 2005). *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin es un hongo de la familia Clavicipitaceae, Ascomycota. De talo miceliar, se reproduce principalmente por mitosporas. Tiene distribución cosmopolita, y naturalmente se encuentra en el ambiente como saprófito, endófito, o entomopatógeno. Ha demostrado la capacidad de controlar insectos diversos entre otros grupos (Mongkolsamrit et al., 2020).

Los formulados comerciales, en general, se basan en conidios (mitosporas formadas sobre la superficie por fermentación de un sustrato sólido o semisólido) utilizando medios de cultivo naturales enriquecidos v.g. arroz en bolsas de polipropileno (Li et al., 2010), para el control de cucarachas (Lopes & Alves, 2011; Gutierrez et al., 2015). Los hongos actúan por contacto, el mecanismo de

infección inicia cuando los conidios se adhieren a la cutícula de su hospedador. El propágulo germina, forma un apresorio, y mediante acción mecánica y química, rompe, degrada y penetra la cutícula. Las blastosporas se forman en el hemocele del insecto, con el fin de propagarse. Si la infección es exitosa, el insecto morirá por lisis de sus tejidos, toxinas y falta de nutrientes (Humber, 2008). Las blastosporas son células levaduriformes, de pared delgada única. Estas blastosporas, y otros tipo de propágulos como pellets y/o microesclerocios, se pueden obtener fermentando en medios de cultivo líquidos (Rivas-Franco et al., 2020). Las principales ventajas de la fermentación en medios de cultivo líquidos son la reducción de los periodos de tiempo hasta la obtención de los propágulos, mayor control sobre los parámetros durante la fermentación, y mayor potencial de escalabilidad (Mascarin & Jaronski, 2016). La Colección de Hongos Entomopatógenos y Simbiontes del Centro de Estudios Parasitológicos y Vectores, CEPAVE (CONICET-UNLP-CIC) (López Lastra et al., 2020) cuenta en su haber con más de 800 aislamientos nativos del territorio argentino, de los cuales 201 fueron clasificados como *Metarhizium* spp. Consideramos que utilizar aislamientos nativos supone una ventaja ambiental regional y podría facilitar

la aprobación y adopción de los productos en Argentina.

El objetivo del presente trabajo es evaluar la producción de blastosporas de diferentes aislamientos nativos de *Metarhizium brunneum* y *M. robertsii* en medio de cultivo líquido, y su patogenicidad utilizando como especie blanco a la cucaracha urbana *Blattella germanica*.

Materiales y métodos

Se preseleccionaron 6 aislamientos fúngicos: *Metarhizium robertsii* (CEP823 y CEP824) y *Metarhizium brunneum* (CEP005, CEP350, CEP578 y CEP593). Los aislamientos fueron recuperados desde diversos métodos de preservación a largo plazo (López Lastra & Gutierrez, 2019) a medio Sabourad Dextrosa Agar suplementado con Extracto de Levadura (modificado de Inglis, Enkerli, & Goettel, 2012). Luego de 15 días de incubación a 25°C fotoperiodo 12:12 luz:oscuridad, los cultivos fueron fraccionados y almacenados en glicerol 10% v/v a -20°C hasta su uso. Para su uso, se descongelaron en termobloque a 25°C los viales y se esparcieron con ansa de Drigalsky esteril sobre placas de Petri con SDYA ¼ (por litro de agua: Peptona 2,5 g; Dextrosa 10 g; Extracto de levadura 2,5 g; Agar bacteriológico 20 g) y se incubaron como se mencionó previamente. Al

decimoquinto día, los conidios de la superficie del medio de cultivo fueron removidos con espátula esteril, suspendidos en \approx 15 mL de Tween 80 (Polisorbato) 0,01% v/v y homogeneizados con vortex a 3000 RPM. Finalmente la suspensión fue ajustada, con el uso del hemocitómetro, a una concentración de $1E+07$ conidios/mL (Inglis, Enkerli, & Goettel, 2012).

Se tomaron 5 mL de una suspensión ajustada de conidios y fueron inoculados en Erlenmeyers de 250 mL con 95 mL de medio Adameks (modificado por Gutierrez et al., 2015), cerrados con tapón de algodón, gasa y papel aluminio; dispuestos en agitador orbital a 250 RPM. Cada tratamiento se realizó por duplicado, tres veces en el tiempo ($n=6$). Periódicamente se agitaron manualmente los Erlenmeyer para reducir los crecimientos miceliares en las paredes. A las 48, 72 y 96 horas se tomaron muestras de 1 mL con tips con la punta cortada y se diluyeron en 9 mL de agua destilada. Con hemocitómetro se observó la concentración de blastosporas ($n=18$). La temperatura ambiental y humedad relativa fueron registradas cada 20 minutos durante todo el proceso. Después de la última observación (96 horas) el medio de cultivo se filtró con tela voile doble, lo retenido se secó en estufa a 70°C hasta peso constante para mediciones de peso de la biomasa seca. El

medio de cultivo restante se centrifugó (5000 RPM, 4°C), se descartó el sobrenadante y el pellet se resuspendió en 40 mL de NaCl 0,9% p/v. Este procedimiento se repitió dos veces hasta eliminar los restos de medio de cultivo y la blastosporas se resuspendieron en solución fisiológica y se ajustaron a una concentración de $1E+07$ blastosporas/mL. Se sedaron diez adultos de *Blattella germanica* con CO_2 y se asperjaron con 3 aplicaciones (338 mL) de una suspensión de $1E+07$ blastosporas/mL, utilizando rociadores. Una vez tratados, los insectos se colocaron con pinzas entomológicas en envases plásticos translúcidos (7 cm de diámetro, aproximadamente 290 mL) con tapa, que contenían alimento, algodón con agua y cartón de maple como refugio. Los controles fueron tratados de la misma manera, pero asperjados con solución fisiológica. Los tratamientos se realizaron por triplicado, en dos tiempos ($n=6$), en bloques de diseño experimental completamente aleatorizado y un control por cada bloque. Las unidades experimentales fueron incubadas a temperatura y humedad controlada. El porcentaje de blastosporas viables fue evaluado luego de 16 hs de incubación. Se colocó comida y agua dentro de los recipientes y se cambiaron cada dos días. La mortalidad se monitoreó, día por medio, hasta 20 días después del tratamiento. Las

cucarachas muertas se retiraron de su unidad experimental y se colocaron en cámaras húmedas (placas de Petri plasticas de 9 cm de diámetro con papel de filtro saturado de agua en el fondo y dos portaobjetos cruzados encima sobre los que se apoya el insecto muerto) y selladas con film plástico traslúcido e incubadas a 25 ± 1 °C y periódicamente revisadas bajo lupa binocular en búsqueda de crecimientos fúngicos asociados a *Metarhizium*. Las estructuras fúngicas halladas fueron teñidas con lactofenol al 0,01% p/v y azul de algodón al 1% p/v y observadas bajo microscopio óptico para confirmar la infección.

Los datos de concentración de blastosporas se transformaron mediante logaritmo de base 10. Se realizó ANOVA para comparar las producciones de blastosporas de cada aislamiento a lo largo del tiempo, seguido por el test HSD de Tukey para comparaciones múltiples. También se realizó ANOVA para comparar las producciones a las 48 horas de cada aislamiento, y test HSD de Tukey. Se realizaron curvas de supervivencia de Kaplan-Meier, y se compararon con test de log-rank. Posteriormente se ajustaron los valores p del test de log-rank mediante el método de Benjamini & Hochberg, 1995. Los análisis estadísticos se hicieron con Python, haciendo uso de las bibliotecas "scipy" 1.11.1 (Virtanen et al., 2020),

"statsmodels" 0.14.0 (Seabold & Perktold, 2010) y "lifelines" v.0.28.0 (Davidson-Pilon, 2019).

Resultados y discusión

Todos los aislamientos fueron capaces de crecer y producir biomasa y blastosporas en el medio líquido, excepto los identificados como CEP005 y CEP578, que no mostraron producción de blastosporas durante el período estudiado (Fig. 1).

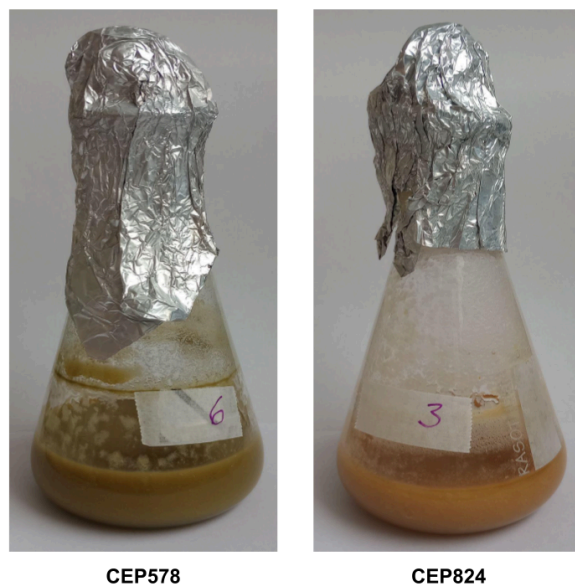


Figura 1. Cultivos luego de 96 horas de fermentación en sustrato líquido, previos al proceso de cosecha de blastosporas. De izquierda y derecha, CEP578 y CEP824 respectivamente.

La concentración de blastosporas varió entre tratamientos, así como también lo hizo en el tiempo. Las producciones de blastosporas oscilaron entre los valores mínimo de $4,33E+06$ blastosporas/mL

(CEP593, 96 hs) y máximo de 6,49E+08 blastosporas/mL (CEP824, 96 hs).

Los resultados de ANOVA muestran una diferencia estadísticamente no significativa de la concentración de blastosporas entre los distintos días de medición para cada aislamiento. ANOVA pudo demostrar diferencias estadísticamente significativas de las concentraciones de blastosporas entre los tratamientos a las 48 horas ($F_{3/23} = 31,085$, $p < 0,001$). El test HSD de Tukey indicó que CEP823 y CEP824 no presentan diferencias significativas ($p = 0,606$), mientras que estos sí presentan diferencias significativas con CEP350 ($p = 0,001$), y este último hace lo propio con CEP593 ($p = 0,046$) (Fig.2).

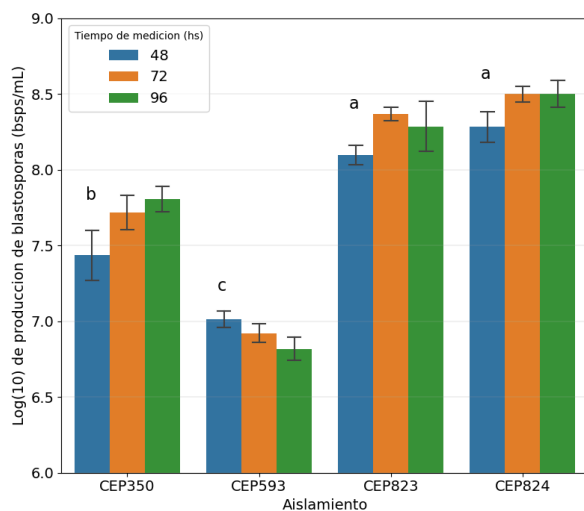


Figura 2. Barplot: Promedio de valores del logaritmo de base 10 de la concentración de blastosporas ($n=6$). Barra de error: error estándar. Letras minúsculas: Tukey HSD ($p \leq 0,05$) de la producción de blastosporas a las 48 horas.

El porcentaje de germinación de las blastosporas en todos los casos fue igual al 100%.

Las blastosporas de todos los aislamientos evaluados demostraron ser patogénicas para la cucaracha *Blattella germanica*. El tratamiento CEP824 mostró la supervivencia más baja (37,8%), y los controles mostraron 90% de supervivencia al final del ensayo. El test de log-rank de a pares encontró que todas las curvas de supervivencias de los tratamientos difieren de la curva control ($p \leq 0,05$), más los tratamientos no difieren entre sí. Estos resultados fueron confirmados por el ajuste de los valores p según la corrección de Benjamini-Hochberg (Fig.3).

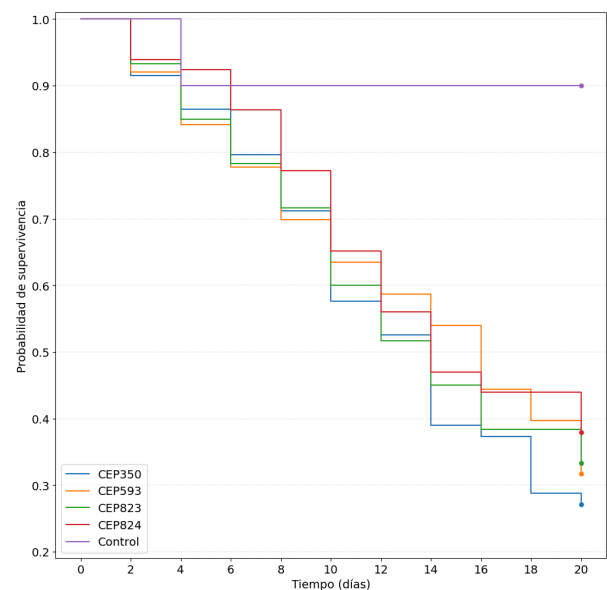


Figura 3. Gráfico de curvas de supervivencia de Kaplan- Meier.

Las cucarachas con síntomas de infección fúngica mostraron movilidad reducida, espasmos y no respondieron a la estimulación mecánica, esto se observó en todos los tratamientos a partir del segundo día.

Las cucarachas que murieron se colocaron en cámaras húmedas y presentaron un porcentaje de esporulación de 62%, 69%, 72% y 78% característico de *Metarhizium sp.* para los tratamientos CEP593, CEP350, CEP823, y CEP824, respectivamente (Fig. 4 y 5).



Figura 4. Fotografía de cucaracha hembra muerta, incubada en cámara húmeda hasta especulación, cabeza hacia la izquierda, ooteca hacia la derecha. Tratamiento CEP350. Lupa Leica M205A, sensor Leica DMC4500.

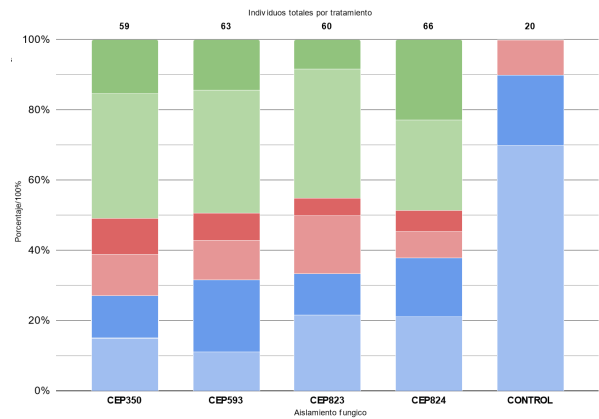


Figura 5. Grafico de barras apiladas al 100%: cantidad de cucarachas vivas (azules), muertas no esporuladas (rojas), y muertas esporuladas (verdes), diferenciadas por sexo (color claro para machos; color oscuro para hembras) de cada tratamiento y control.

Conclusiones

Los aislamientos fúngicos produjeron altas concentraciones de blastosporas, sobre todo considerando lo pobre cuali y cuantitativamente del medio Adameks modificado. En este sentido, se obtuvieron rendimientos ampliamente superiores a otros publicados para el mismo género en el mismo medio de cultivo (Ortiz-Urquiza, Garrido-Jurado, Borrego, & Quesada-Moraga, 2010; Ypsilos & Magan, 2005). Se encuentra como una curiosidad la ausencia de producción de blastosporas por parte de dos aislamientos (CEP005 y CEP578), ambos identificados como *Metarhizium brunneum*. Esto se condice con que las concentraciones más bajas en las que sí se obtuvieron blastosporas

fueron los otros dos aislamientos de la misma especie (CEP593 y CEP350). Esto podría deberse a una incompatibilidad entre la especie, el medio de cultivo, los parámetros ambientales, o combinaciones de estos tres factores. Para destacar, la ausencia de significancia entre las producciones de 48, 72 y 96 horas indica que a partir de las 48 horas ya se cuenta con la cantidad de blastosporas máximas, una reducción de 7,5 veces de los 15 días aproximados que toma a los aislamientos colonizar y esporular en medios de cultivo sólidos v.g. Sabouraud Dextrosa Agar.

Los cuatro aislamientos productores de blastosporas en el medio Adamek fueron patógenos para *Blattella germanica*. Causaron mortalidades superiores al 60% en las poblaciones, y se destaca que más del 60% de los individuos muertos esporularon *post mortem* bajo las condiciones adecuadas. En la bibliografía revisada, no se han encontrado registros previos de aislamientos de *Metarhizium brunneum* como patógeno de cucarachas, lo que hace de este estudio el primer reporte de aislamientos de esta especie causando la muerte en cucarachas. Este hallazgo sugiere un potencial significativo de aislamientos nativos de *Metarhizium brunneum* como agente de control biológico contra poblaciones de este insecto urbano, destacando la importancia de continuar investigando en este campo.

De acuerdo a los resultados, los aislamientos nativos de *Metarhizium robertsii* y *M. brunneum* serán considerados como prometedores candidatos para desarrollar un insumo de control de cucarachas basado en microorganismos. Se continuará estudiando estos aislamientos, su respuesta frente a otros medios de cultivo con distintos costos y eficiencias, su estabilidad de almacenamiento, y su posible aplicación en el control de cucarachas.

Referencias bibliográficas

Benjamini, Y., & Hochberg, Y. (1995). Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, 57(1), 289–300. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>

Dashti, K., Gholizadeh, S., Zaim, M., Baniardalani, M., & Basseri, H. (2024). Susceptibility Status of Several Field-Collected German Cock-roaches (*Blattella germanica*) to a Pyrethroid Insecticide and Molecular Detection of Knockdown Resistance (kdr). *Iranian Journal of Public Health*, 53(4), 957–966. <https://doi.org/10.18502/ijph.v53i4.15573>

- Davidson-Pilon, C. (2019). lifelines: Survival analysis in Python. *Journal of Open Source Software*, 4(40), 1317. <https://doi.org/10.21105/joss.01317>
- Gutierrez, A. C., Gołębowski, M., Pennisi, M., Peterson, G., García, J. J., Manfrino, R. G., & López Lastra, C. C. (2015). Cuticle Fatty Acid Composition and Differential Susceptibility of Three Species of Cockroaches to the Entomopathogenic Fungi *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota, Hypocreales). *Journal of Economic Entomology*, 108(2), 752–760. <https://doi.org/10.1093/jee/tou096>
- Humber, R. A. (2008). Evolution of entomopathogenicity in fungi. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98(3), 262–266. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.02.017>
- Inglis, G. D., Enkerli, J., & Goettel, M. S. (2012). Chapter VII - Laboratory techniques used for entomopathogenic fungi: Hypocreales. En L. A. Lacey (Ed.), *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology (Second Edition)* (pp. 189–253). San Diego: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386899-2.00007-5>
- Jaronski, S. T., & Jackson, M. A. (2012). Chapter VIII - Mass production of entomopathogenic Hypocreales. En L. A. Lacey (Ed.), *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology (Second Edition)* (pp. 255–284). San Diego: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386899-2.00008-7>
- Lima, V. H., Matugawa, A. T., Mascarin, G. M., & Fernandes, É. K. K. (2024). Complex nitrogen sources from agro-industrial byproducts: Impact on production, multi-stress tolerance, virulence, and quality of *Beauveria bassiana* blastospores. *Microbiology Spectrum*, 12(6), e04040-23. <https://doi.org/10.1128/spectrum.04040-23>
- Lopes, R. B., & Alves, S. B. (2011). Differential susceptibility of adults and nymphs of *Blattella germanica* (L.) (Blattodea: Blattellidae) to infection by *Metarhizium anisopliae* and assessment of delivery strategies. *Neotropical Entomology*, 40, 368–374. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2011000300010>
- López Lastra, C. C., & Gutierrez, A. C. (2019). CAPÍTULO 9: MÉTODOS DE PRESERVACIÓN DE CULTIVOS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS. En C. C. López Lastra & R. E. Lecuona (Eds.), *Micopatología de artrópodos: Hongos entomopatógenos para ser usados como bioinsumos en el control microbiano de*

plagas (1era ed., pp. 167–178). Ediciones INTA.

López Lastra, C. C., Manfrino, R. G., Rodríguez, M. B., Gutierrez, A. C., Ordoqui, E., & Navone, G. T. (2020). Catálogo de la colección de cultivos de especies de hongos patógenos y simbioses de insectos y otros artrópodos de la Argentina. *Gayana. Botánica*, 77(1), 23–37.

<https://doi.org/10.4067/S0717-66432020000100023>

Mascarin, G. M., & Jaronski, S. T. (2016). The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(11), 177. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2131-3>

Mongkolsamrit, S., Khonsanit, A., Thanakitpipattana, D., Tasanathai, K., Noisripoom, W., Lamlertthon, S., ... Luangsa-ard, J. (2020). Revisiting *Metarhizium* and the description of new species from Thailand. *Studies in Mycology*, 95, 171–251. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2020.04.001>

Ortiz-Urquiza, A., Garrido-Jurado, I., Borrego, A., & Quesada-Moraga, E. (2010). Effects of cultural conditions on

fungal biomass, blastospore yields and toxicity of fungal secreted proteins in batch cultures of *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales). *Pest Management Science*, 66(7), 725–735. <https://doi.org/10.1002/ps.1934>

Pai, H.-H., Chang, C.-Y., Lin, K.-C., & Hsu, E.-L. (2023). Rapid insecticide resistance bioassays for three major urban insects in Taiwan. *Parasites & Vectors*, 16(1), 447. <https://doi.org/10.1186/s13071-023-06055-x>

Rivas-Franco, F., Hampton, J. G., Altier, N. A., Swaminathan, J., Rostás, M., Wessman, P., ... Glare, T. R. (2020). Production of *Microsclerotia* From Entomopathogenic Fungi and Use in Maize Seed Coating as Delivery for Biocontrol Against *Fusarium graminearum*. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 606828. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.606828>

Seabold, S., & Perktold, J. (2010). *Statsmodels: Econometric and Statistical Modeling with Python*. 92–96. Austin, Texas. <https://doi.org/10.25080/Majora-92bf1922-011>

Skinner, M., Parker, B. L., & Kim, J. S. (2014). Chapter 10—Role of Entomopathogenic Fungi in Integrated Pest

Management. En D. P. Abrol (Ed.), *Integrated Pest Management* (pp. 169–191). San Diego: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398529-3.00011-7>

Virtanen, P., Gommers, R., Oliphant, T. E., Haberland, M., Reddy, T., Cournapeau, D., ... Vázquez-Baeza, Y. (2020). SciPy 1.0: Fundamental algorithms for scientific computing in Python. *Nature Methods*, 17(3), 261–272. <https://doi.org/10.1038/s41592-019-0686-2>

Ypsilos, I. K., & Magan, N. (2005). Characterisation of optimum cultural environmental conditions for the production of high numbers of *Metarhizium anisopliae* blastospores with enhanced ecological fitness. *Biocontrol Science and Technology*, 15(7), 683–699. <https://doi.org/10.1080/09583150500136774>

Financiamiento

Sin orden particular, este trabajo fue financiado por:
Proyecto de Investigación bianual de CONICET (PIBAA) 2872021010 0380CO

“Evaluación de la virulencia de las blastosporas y los conidios de *Metarhizium* sp. aplicados al control de cucarachas urbanas.” Directora: Gutierrez Alejandra C. Proyecto de Fortalecimiento de Colecciones Biológicas 2023 (CONICET, Fundación Bunge y Born, Fundación Williams): “Colección de referencia de hongos patógenos de insectos del CEPAVE: preservación del germoplasma y actualización de la digitalización de datos.” Directora: Gutierrez Alejandra C. Proyecto UNLP: 80120180200076LP. “Diversidad y distribución de especies de *Cordyceps* y especies afines (Ascomycota: Sordariomycetes) patógenas de insectos de la Argentina.” Directora: López Lastra Claudia C.

Agradecimiento

A la Lic. Natalia S. Scelsio, profesional de la Colección de Hongos Entomopatógenos y Simbiontes del CEPAVE, por su valiosa ayuda en la recuperación y mantenimiento de los aislamientos fúngicos. Al Lic. Luis Giambelluca, profesional de apoyo del CEPAVE, por su colaboración en el área de microscopía y en la toma de fotografías.