

Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos

Alejandro Téllez-Jurado¹, María Guadalupe Cruz Ramírez¹, Yuridia Mercado Flores¹
Alí Asaff Torres², Ainhoa Arana-Cuenca¹

¹Universidad Politécnica de Pachuca, Carr. Pachuca – Ciudad Sahagún Km. 20, Zempoala, Hidalgo, Telf. (771) 5477510
²Centro de Investigaciones en Alimentación y Desarrollo, A.C., Km 06 Carretera a la Victoria, Ejido La Victoria, Hermosillo, Sonora

Action and response mechanisms in relation of entomopathogenic fungi and insects

Abstract. The study of the entomopathogenic fungi-insect interaction has been important in development of strategies for controlling crop pests of agricultural importance. Each one of the organisms has evolved attack and defense mechanisms for their survival. This paper is a detailed description of the fungal attack systems and the defense mechanisms of the insects. Knowledge of these processes can help for the isolation, selection and improvement of fungal strains to be used as biological control agents and assist protection strategies for beneficial species.

Key words: biological control, defense mechanisms, pathogenic mechanisms, infection cycle.

Resumen. El estudio de la interacción hongo entomopatógeno-insecto ha sido de gran importancia en el diseño de estrategias para el control de plagas de cultivos de importancia agrícola. Cada uno de los involucrados posee diferentes mecanismos de acción y respuesta necesarios para su sobrevivencia. La presente revisión, tiene por objetivo explorar los diferentes mecanismos que los hongos entomopatógenos tienen para infectar a los insectos y los mecanismos que los insectos tienen para defenderse. El conocimiento de dichos procesos puede ayudar en el aislamiento, selección y mejora de cepas fúngicas para su utilización como agentes de control biológico y/o en el cuidado de especies benéficas de insectos.

Palabras clave: control biológico, mecanismos de defensa, mecanismos patogénicos, ciclo de infección.

Received 13 October 2008; accepted 9 October 2009.

Recibido 13 de octubre 2008; aceptado 9 de octubre 2009.

Introducción

El control biológico es una práctica agrícola en constante crecimiento que busca la destrucción total o parcial de patógenos e insectos plaga, frecuentemente mediante el uso de sus enemigos naturales (Spardo y Gullino, 2004). Existen numerosos reportes sobre la utilización de microorganismos

*Autor para correspondencia: Ainhoa Arana Cuenca
ainhoa@upp.edu.mx*

entomopatógenos, que por su capacidad de producir enfermedad y muerte en insectos, son utilizados como agentes de control biológico (Asaff *et al.*, 2002). De los diferentes microorganismos empleados, los hongos tienen mecanismos de invasión únicos que les permiten atravesar de forma directa la cutícula o la pared del tracto digestivo de los insectos, lo que los hace excelentes agentes de control biológico actuando como insecticidas de contacto (Charnley y Collins, 2007).

Los insectos, por su parte, tienen mecanismos de defensa contra las agresiones de los entomopatógenos, que involucran barreras físicas, defensas humorales, defensas celulares y de comportamiento social (Marmaras *et al.*, 1996).

Existen diversas revisiones sobre los mecanismos de defensa de los insectos (Marmaras *et al.*, 1996; Levitin y Whiteway, 2008), los mecanismos de acción de los hongos entomopatógenos (Shah y Pell, 2003; Castrillo *et al.*, 2005; Pucheta *et al.*, 2006; Charnley y Collins, 2007) y las interacciones entre ellos (Hajek y St. Leger, 1994; Vilcinskas y Götz, 1999).

En esta revisión se describen los mecanismos de acción y respuesta que se establecen durante la relación hongo entomopatógeno-insecto, incorporando los últimos avances en este campo. La comprensión de dichos mecanismos podrá permitir un uso más eficiente y específico de los agentes

fúngicos de control biológico y ayudará a las estrategias de protección de especies benéficas de insectos.

Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos

Hasta el momento se han descrito más de 750 especies de hongos entomopatógenos y el aislamiento de nuevas cepas continúa. Dentro de los más utilizados a nivel mundial se encuentran *Metarhizium anisopliae* (33.9%), *Beauveria bassiana* (33.9%), *Isaria fumosorosea* (antes *Paecilomyces fumosoroseus*) (5.8%) y *Beauveria brongniartii* (4.1%) (de Faria y Wraight, 2007). El desarrollo de la enfermedad en el insecto esta dividido en tres fases: (1) adhesión y germinación de la espора en la cutícula del insecto, (2) penetración en el hemocele y (3) desarrollo del hongo, que generalmente resulta en la muerte del insecto (Figura 1).

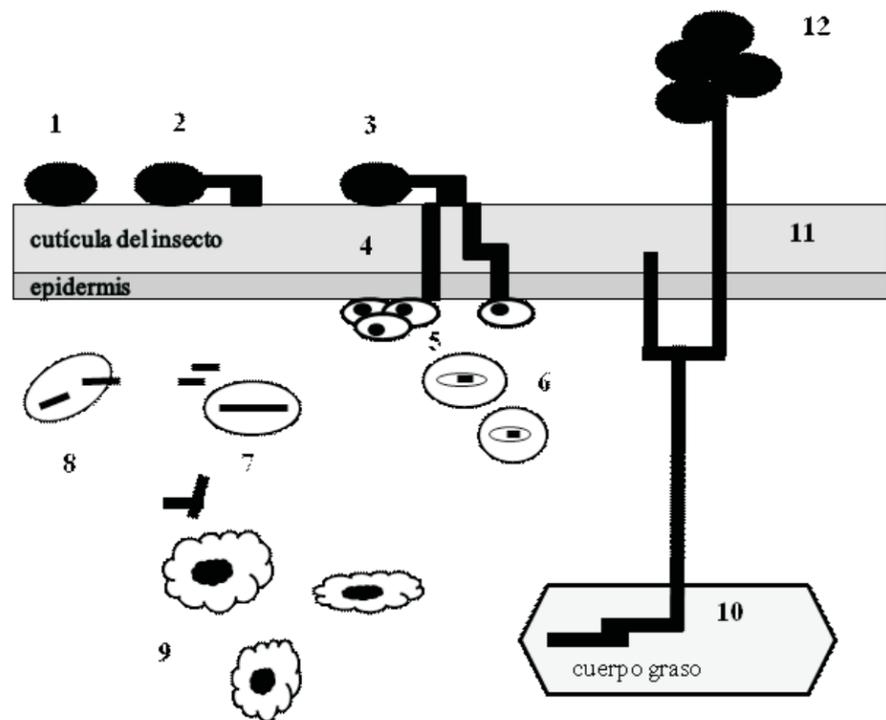


Figura 1. Esquema del desarrollo de un hongo entomopatógeno (modificado de Vilcinskas y Götz, 1999). 1. Adhesión de la espора a la cutícula del insecto, 2. Germinación y formación del apesorio, 3. Penetración de la cutícula, 4. Crecimiento lateral y penetración en la epidermis, 5. Agregación de los hemocitos en el lugar de penetración fúngica, 6. Fagocitosis de cuerpos hifales por células fagocíticas del insecto, 7. Transformación a cuerpos levaduriformes, 8. Evasión del sistema inmune, 9. Propagación en el hemocele, 10. Transformación a cuerpo hifal, 11. Esporulación y germinación atravesando la cutícula del insecto, 12. Diseminación de las esporas.

Tabla 1. Principales metabolitos producidos por hongos entomopatógenos

Clasificación	Hongos que las producen
No peptídicas	
Oospereína	<i>Beauveria tenella</i> , <i>B. bassiana</i>
Tenellina	<i>B. tenella</i>
Bassianina	<i>B. bassiana</i>
Ácido oxálico	<i>Beauveria</i> , <i>Verticillium</i> , <i>Metarhizium</i>
Ácido fusárico	<i>Fusarium</i>
Ácido dipicolínico	<i>Beauveria</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Verticillium</i>
Paecilomicinas	<i>Paecilomyces tenuipes</i>
Peptídicas lineales	
Leucinostinas	<i>Paecilomyces</i>
Efraeptinas	<i>Tolyptocladium</i>
Peptídicas cíclicas	
Beuvericina	<i>B. bassiana</i> , <i>Paecilomyces</i>
Beauverólidos	<i>B. bassiana</i> , <i>Paecilomyces</i>
Destruixinas	<i>Metarhizium</i>
Eniatinas	<i>Fusarium</i>
Ciclosporinas	<i>Metarhizium</i>

Modificada de Khachatourians, 1996.

1) Adhesión de la espора a la cutícula del hospedero y germinación de la espора

El primer contacto entre el hongo entomopatógeno y el insecto sucede cuando la espора del primero es depositada en la superficie de este último. El proceso de adhesión ocurre en tres etapas sucesivas: adsorción de la espора a la superficie mediante el reconocimiento de receptores específicos de naturaleza glicoproteica en el insecto, la adhesión o consolidación de la interfase entre la espора pregerminada y la epicutícula y finalmente, la germinación y desarrollo hasta la formación del apesorio para comenzar la fase de penetración (Tanada y Kaya, 1993; Pedrini *et al.*, 2007).

El proceso de adhesión de la espора a la cutícula del insecto, está mediado por la presencia de moléculas sintetizadas por el hongo denominadas adhesinas. En el entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* se ha descrito un tipo de adhesina denominada MAP1 la cual se localiza en la superficie de los conidios. La expresión heteróloga de MAP1 en *Saccharomyces cerevisiae* le confiere a la levadura

propiedades adherentes específicamente a la cutícula de los insectos. La disrupción del gen que codifica para MAP1 afecta la germinación y la formación de blastosporas, así mismo reduce considerablemente la virulencia del hongo (Wang *et al.*, 2007). Por otro lado se ha demostrado que los iones divalentes como el Ca^{2+} y el Mg^{2+} reducen las fuerzas de repulsión electrostáticas promoviendo la adhesión de las esporas (Pucheta Díaz *et al.*, 2006).

2) Penetración en el hemocele

La forma en la que los hongos entomopatógenos penetran en el insecto depende de las propiedades de la cutícula tales como el grosor, la esclerotización y la presencia de sustancias antifúngicas y nutricionales (Charnley, 1992).

Una vez establecido el proceso de adhesión, continua la penetración la cual es posible gracias a la acción combinada de dos mecanismos uno físico y uno químico, el primero consiste en la presión ejercida por una estructura fúngica denominada haustorio, la cual deforma primeramente la capa cuticular rompiendo luego las áreas esclerosadas y

membranosas de la cutícula. El mecanismo químico consiste en la acción enzimática, principalmente de actividades hidrolíticas tales como proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales degradan el tejido en la zona de penetración, facilitando la entrada del hongo (Monzón, 2001). Estudios *in vitro* indican que en la digestión del integumento sigue una secuencia de lipasa-proteasa-quitinasa (Tanada y Kaya, 1993). Se ha observado que la acción enzimática puede ser coadyuvada por la secreción de ácidos orgánicos, como el ácido oxálico (Bidochka y Kachaturians, 1991).

La proteasa Pr1 es considerada un importante factor de virulencia en *Metharizium anisopliae*, la sobreexpresión de esta enzima en el mismo hongo reduce en un 25% el tiempo de muerte en *Manduca sexta*, en comparación con aquellos que fueron infectados con el genotipo silvestre (St. Leger *et al.*, 1996). De la misma forma la sobreexpresión del gen que codifica para la quitinasa de *Beauveria bassiana* acelera el proceso de muerte en los insectos en un 23% (Fan *et al.*, 2007). De esta manera, se demuestra la importancia de la secreción de estas enzimas hidrolíticas en la virulencia de los hongos entomopatógenos, lo cual pudiera ser una herramienta para la selección de mejores cepas para la formulación de insecticidas biológicos.

Otro mecanismo que utilizan los hongos para penetrar al hemocele es a través de la cavidad bucal, espiráculos y otras aberturas externas del insecto. Puesto que la humedad no es un problema en el tracto alimenticio, la espóra puede germinar rápidamente en este ambiente; aunque los fluidos digestivos pudieran destruirla o degradar la hifa germinativa. En algunos casos, la digestión de estructuras fúngicas puede causar la muerte por toxicidad más que por la micosis (Charnley, 1992).

3) Replicación en el hemocele

Después de llegar al hemocele, la mayoría de los hongos realizan transición dimórfica de micelio a levadura y una vez que han evadido el sistema inmune del insecto, se produce una

septicemia.

La micosis induce a síntomas fisiológicos anormales en el insecto tales como convulsiones, carencia de coordinación, comportamientos alterados y parálisis. La muerte sobreviene por una combinación de efectos que comprenden el daño físico de tejidos, toxicosis, deshidratación de las células por pérdida de fluido y consumo de nutrientes (Bustillo, 2001).

Ya en el interior del insecto, los hongos deben enfrentarse con los mecanismos de respuesta del sistema inmune para lo cual han desarrollado estrategias defensivas e inmunosupresoras, como la producción de toxinas o cambios estructurales en su pared celular. Un tema muy común en la literatura de patología de insectos es la producción de toxinas por diversas especies de hongos entomopatógenos. Existe un considerable número de metabolitos secundarios de bajo peso molecular que han sido aislados de patógenos de insectos (Tabla 1), muchos de los cuales han demostrado poseer actividad insecticida marginal (Gillespie y Claydon, 1989).

Aunque menos estudiadas, también se ha observado que diferentes macromoléculas de naturaleza proteica tienen un efecto insecticida notable como las proteínas melanizantes de *B. bassiana* (Fuguet y Vey, 2004; Fuguet *et al.*, 2004), una glicoproteína de *B. sulfurescens* (Mollier *et al.*, 1994) y la hirsutellina A, aislada de *Hirsutella thompsonii* (Wei-Zhen *et al.*, 1995). Los metabolitos insecticidas producidos por hongos tienen varios modos de acción y en muchos casos suelen ser la causa directa de la muerte del insecto, actuando sobre las células especializadas del sistema inmune para evitar su ataque a las estructuras invasivas de los hongos.

También, se ha observado que para evitar el ataque del sistema inmune del insecto, los hongos suelen prescindir de la formación de pared celular y se desarrollan como protoplastos, evadiendo su reconocimiento por los hemocitos circulantes en el hemocele (Vinson, 1991). Cuando los nutrientes provenientes del insecto, particularmente las

fuentes de nitrógeno se van agotando, las fases levaduriformes retoman su crecimiento micelial, tal como fue observado en *Entomophthora thripidum* (Freimoser *et al.*, 2003). Por último, cuando las condiciones de humedad y temperatura son las adecuadas, las hifas del hongo emergen nuevamente al exterior del cadáver del insecto, donde esporula. La esporulación ocurre generalmente en cadáveres pero puede también ocurrir en insectos vivos (Tanada y Kaya, 1993).

Finalmente la dispersión de la espóra puede ser un proceso activo o pasivo y depende de las características de la espóra y el esporangio. Cada espóra puede adherirse o pasar de un invertebrado a otro por dispersión (Tanada y Kaya, 1993).

Mecanismos de defensa de los insectos

En general, la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* ha sido el organismo modelo utilizado para dilucidar los mecanismos de defensa de los insectos ante el ataque de los patógenos, los cuales han sido clasificados en 1) barreras físico-químicas y 2) sistema inmune innato (Meister *et al.*, 1997; Elrod-Erickson *et al.*, 2000; Levitin y Whiteway, 2008) y 3) otras estrategias de defensa. En el caso de insectos sociales, como abejas, termitas y hormigas también se ha observado que adaptaciones de su comportamiento permiten mantener la inmunidad de sus colonias (Richards *et al.*, 2008).

1) Barreras físico-químicas

La cutícula es la primera línea de defensa al ser una estructura rígida que recubre la parte externa del insecto conformada por dos capas: la epicutícula y la procutícula. La primera está compuesta principalmente por grasas, ceras y lipoproteínas, cuya función es evitar la pérdida de agua por la transpiración. La segunda es la más abundante ya que constituye el 95% de esta estructura y está compuesta de quitina y diversas proteínas estructurales que proporcionan rigidez, actuando como una barrera física a la penetración de los patógenos,

además de ser difícilmente degradada por las enzimas líticas excretadas por los mismos (Hajek y St. Leger, 1994).

En la actualidad se considera que la cutícula tiene una función más activa, ya que desde la epidermis se secretan moléculas que actúan de manera específica inhibiendo los mecanismos de infección de los entomopatógenos. Se ha reportado que en la cutícula se da la producción de proteasas, peptidasas antifúngicas e inhibidores de proteasas fúngicas que podrían tener un papel importante durante la infección, además de la presencia de ácidos grasos de cadena corta y lípidos de cutícula que inhiben la germinación de las esporas de los hongos (Dunn, 1991; Samuels y Paterson, 1995; Kachaturians, 1996; James *et al.*, 2003).

2) Sistema inmune innato

La segunda línea de defensa de los insectos la constituye el sistema inmune innato conformado por el sistema celular y el sistema humoral, capaz de reaccionar ante la invasión de patógenos diferenciando lo propio de lo extraño. En este proceso participan los sistemas de reconocimiento de patrones moleculares característicos de polisacáridos microbianos presentes en la pared celular como: peptidoglicanos, abundantes en bacterias Gram (+); liposacáridos en la membrana externa de bacterias Gram (-) y finalmente β -1,3 glucanos en la pared celular de los hongos.

El sistema humoral utiliza proteínas antibióticas y otras moléculas efectoras que circulan en el hemocele y/o cutícula con la finalidad de inactivar los agentes patógenos que accedan al interior del insecto. Se ha descrito que los insectos sintetizan moléculas con acción biocida específica tales como cecropinas, defensinas, atacinas, lisozimas, entre otros. (Boman *et al.*, 1991). Aunque es un tema aún controvertido, se ha determinado la existencia de fenoloxidasas y hemaglutininas (lectinas) en la hemolinfa que podrían simular el papel de antígenos en combinación con proteínas depositadas en la superficie de los invasores. En algunos dípteros, el plasma de la hemolinfa se encarga de

melanizar y encapsular los microorganismos invasores vía tirosina-fenoloxidasa sin que los hemocitos estén involucrados en la formación de la cápsula (Tanada y Kaya, 1993).

El sistema celular, por su parte, está compuesto por los hemocitos que circulan por el hemocele capaces de reconocer los elementos extraños mediante receptores tipo Toll que activan la producción de varios péptidos antimicrobianos (Levitin y Whiteway, 2008). Cuando la concentración de microorganismos patógenos es baja, la fagocitosis es el principal mecanismo para eliminar a los invasores. A concentraciones mayores, se forman agregados denominados nódulos. Existen evidencias que indican que las proPO (pro-fenoloxidasas) juegan un papel muy importante en este sistema, las cuales son enzimas clave para la síntesis de melanina, polímero que suele depositarse sobre los patógenos, formando los encapsulados (Marmaras *et al.*, 1996). En *Drosophila*, dicha reacción es regulada mediante una cascada de señales que involucra serin proteasas inducibles (MP1 y MP2) y su inhibidor (serpin Spn27A), las primeras actúan como activadores de la fenoloxidasa y el segundo regula la actividad enzimática. MP1 activa la melanización en respuesta a infecciones provocadas, por hongos y bacterias, mientras que MP2 está principalmente involucrada en la respuesta a infecciones de origen fúngico (Tang *et al.*, 2006).

Aunque se han clonado los genes que codifican para las fenoloxidasas de *Sarcophaga bullata* y *Apis mellifera* (Chase *et al.*, 2000; Lourenço *et al.*, 2005), el estudio de estas enzimas aún es limitado; sin embargo, el interés por dilucidar el papel de estas enzimas durante la respuesta inmune en los insectos ha cobrado importancia en los últimos años (Kan *et al.*, 2008).

3) Otras estrategias de defensa

Como parte de la constante lucha por la supervivencia, algunos insectos son capaces de mejorar sus habilidades de

defensa contra patógenos de acuerdo a la densidad de sus poblaciones. Bajo tales circunstancias, la selección natural favorece a aquellos individuos que usan señales asociadas a la densidad de población para desarrollar mecanismos de defensa óptimos. Como consecuencia, los individuos que crecen hacinados son más resistentes que aquellos que se desarrollan en condiciones de baja densidad. Este fenómeno denominado “profilaxis dependiente de la densidad” (Wilson y Reeson, 1998), se da principalmente en insectos que presentan polifenismo, como la langosta del desierto *Schistocerca gregaria*. Se observó que cuando estos insectos se desarrollan en condiciones de hacinamiento son significativamente más resistentes al hongo *Metarhizium anisopliae* que langostas solitarias, debido a una actividad antimicrobiana potenciada en sus sistemas de defensa (Wilson *et al.*, 2002).

Los insectos también son capaces de modificar su comportamiento con el propósito de luchar contra los agentes patógenos, tal es el caso de la langosta *Locusta migratoria* que al ser infectada por *Metarhizium anisopliae* incrementa su temperatura corporal por exposición al sol deteniendo el desarrollo de las blastosporas del hongo y facilitando la acción de los hemocitos de su sistema inmune (Ouedraogo *et al.*, 2003).

En el caso de los insectos sociales, éstos han desarrollado múltiples adaptaciones de conducta o comportamiento para evitar o combatir las infecciones por parásitos y patógenos. El primer caso de adaptaciones del comportamiento social consiste en remover a los miembros de la colonia con signos de enfermedad (Richard *et al.*, 2008). En el caso particular de las abejas, además de reconocer y remover a individuos enfermos, son capaces de producir una “fiebre social”, donde las obreras se aglomeran e incrementan la temperatura en torno a larvas enfermas con el propósito de eliminar a los patógenos (Starcks *et al.*, 2000). Una segunda modificación del comportamiento se produce en los propios individuos enfermos para reducir la transmisión de la

enfermedad, manteniéndose fuera de los nidos o alejados de las larvas o de la reina. Finalmente, una tercera modificación del comportamiento consiste en una interacción social alterada de grupos de individuos sanos con individuos infectados. El incremento del contacto de individuos sanos con los enfermos puede resultar en una “vacunación” colectiva de los individuos sanos, incrementando su inmunidad (Richards *et al.*, 2008).

La utilización de los hongos entomopatógenos en la agricultura ha ido en aumento en los últimos años debido al gran potencial que tienen en el manejo de plagas, representando una alternativa eficiente al uso de insecticidas químicos, considerados altamente nocivos para la salud del hombre y los ecosistemas. El entendimiento de los mecanismos involucrados durante el proceso de infección y la utilización de las nuevas técnicas de ingeniería genética permitirán la obtención de nuevos productos biológicos efectivos para su utilización en campo y la protección de especies benéficas de insectos.

Literatura citada

- Asaff-Torres, A., Y. Reyes Vidal, V.E. López y López, M. de la Torre, 2002. Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas. *Avance y Perspectiva* 21:291-295.
- Bidochka, M., G. Khachatourians, 1991. The implication of metabolic acids produced by *Beauveria bassiana* in pathogenesis of the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. *Journal of Invertebrate Pathology* 58:106-117.
- Boman, H.G., I. Faye, G.H. Gudmundsson, J.Y. Lee, D.A. Lidholm, 1991. Cell-free immunity in *Cecropia*. A model system for antibacterial proteins. *European Journal of Biochemistry* 201:23-31.
- Bustillo, A., 2001. Hongos en insectos y posibilidades de uso en el control biológico de plagas en Colombia. In: *Seminario Uso de entomopatógenos en Colombia*. Sociedad Colombiana de Entomología. Bogotá, pp. 30-53.
- Castrillo, L.A., D.W. Roberts, J.D. Vandenberg, 2005. The fungal past, present and future: germination, ramification and reproduction. *Journal of Invertebrate Pathology* 89:45-56.
- Charnley, A.K., S.A. Collins, 2007. Entomopathogenic fungi and their role in pest control. In: Kubicek, C.P., I.S. Druzhinina (eds.), *Environmental and Microbial Relationship*. The Mycota IV. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 159-187.
- Charnley, A.K., 1992. Mechanism of fungal pathogenesis in insects with particular reference to locusts. In: Lomer, C.J., C. Prior (eds.), *Biological control of locusts and grasshoppers*. Melksham, UK: CAB International. pp. 191-190.
- Chase, M.R., K. Raina, J. Bruno, M. Sugumaran, 2000. Purification, characterization and molecular cloning of prophenoloxidasas from *Sarcophaga bullata*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 30:953-967.
- De Faria, M., S. Wraight, 2007. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control* 43:237-256.
- Dunn, P.E., 1991. Insect antibacterial protein. In: Warr, G.W., N. Cohen (eds.), *Phylogenesis of Immune Function*. Plenum Press. Boca Raton, Florida. pp 19-44.
- Elrod-Erickson, M., S. Mishra, D. Schneider, 2000. Interactions between the cellular and humoral immune responses in *Drosophila*. *Current Biology* 10:781-784.
- Fan, Y., W. Fang, S. Guo, X. Pei, Y. Zhang, Y. Xiao, D. Li, K. Jin, K. Jin, M. J. Bidochka, Y. Pei, 2007. Increased insect virulence in *Beauveria bassiana* strains overexpressing an engineered chitinase. *Applied and Environmental Microbiology* 73:295-302.
- Freimoser, F.M., A. Grundschober, U. Tuor, M. Aebi, 2003. Regulation of hyphal growth and sporulation of the insect pathogenic fungus *Entomophthora thripidum* in vitro. *FEMS Microbiology Letters* 222:281-287.
- Fuguet, R., M. Théraud, A.Vey, 2004. Production *in vitro* of toxic macromolecules by strains of *Beauveria bassiana*, and purification of a chitosanase-like protein secreted by a melanizing isolate. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 138:149-161.
- Fuguet, R., A.Vey, 2004. Comparative analysis of the production of insecticidal and melanizing macromolecules by strains of *Beauveria* spp. *in vivo* studies. *Journal of Invertebrate Pathology* 85:152-167.
- Gillespie, A.T., N. Claydon, 1989. The use of entomogenous fungi for pest control and the role of toxins in pathogenesis. *Pesticide Science* 27:203-215.
- Hajek, A.E., R.J. St. Leger, 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology* 39:293-322.
- James, R.R., J.S. Buckner, T.P. Freeman, 2003. Cuticular lipids and silverleaf whitefly stage affect conidial germination of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus*. *Journal of Invertebrate Pathology* 84:67-74.
- Kan, H., C.H. Kim, H.M. Kwon, J.W. Park, K.B. Roh, H. Lee, B.J. Park, R. Zhang, J. Zhang, K. Soderhall, N.C. Ha, B.L. Lee, 2008. Molecular control of phenoloxidase-induced melanin synthesis in an insect. *Journal of Biological Chemistry* 283:25316-23.
- Khachatourians, G.G., 1996. Biochemistry and molecular biology of entomopathogenic fungi. In *The Mycota VI. Human and Animal Relationships*, Howard/Miller eds., Springer-Verlag, Berlin. pp 331-364.
- Levitin, A., M. Whiteway, 2008. *Drosophila* innate immunity and response to fungal infections. *Cellular Microbiology* 10:1021-1026.
- Lourenço, A.P., M.S. Zufelato, M.M.G. Bitondi, Z.L.P. Simões, 2005. Molecular characterization of a cDNA encoding prophenoloxidase and its expression in *Apis mellifera*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 35:541-552.
- Marmaras, V.J., N.D. Charalambidis, C.G. Zervas, 1996. Immune response in insects: the role of phenoloxidase in defense reactions in relation to melanization and sclerotization. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 31:119-133.
- Meister, M., B. Lemaitre, J.A. Hoffmann, 1997. Antimicrobial peptide defense in *Drosophila*. *Bioassays* 19:1019-1026.
- Mollier, P., J. Lagnel, B. Fournet, A. Aïoun, G. Riba, 1994. A glycoprotein highly toxic for *Galleria mellonella* larvae secreted by the entomopathogenic fungus *Beauveria sulfurescens*. *Journal of Invertebrate Pathology* 64:200-207.
- Monzón, A., 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integral de Plagas*. (CATIE, Costa Rica) 63:95-103.

- Ouedraogo, R., M. Cusson, M. Goettel, J Brodeur, 2003. Inhibition of fungal growth in thermoregulating locusts, *Locusta migratoria*, infected by the fungus *Metarhizium anisopliae* var *acridum*. *Journal of Invertebrate Pathology* 82: 103-109.
- Pedrini, N., R. Crespo, M.P. Juárez, 2007. Biochemistry of insect epicuticle degradation by entomopathogenic fungi. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 146:124-137.
- Pucheta Díaz, M., A. Flores Macías, S. Rodríguez Navarro, M. de la Torre, 2006. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *Interciencia* 31:856-860.
- Richard, F.J., A. Aubert, C.M. Grozinger, 2008. Modulation of social interactions by immune stimulation in honey bee, *Apis mellifera*, workers. *BMC Biology* 6:1-13.
- Samuels, R.I., I.C. Paterson, 1995. Cuticle degrading proteases from insect moulting fluid and culture filtrates of entomopathogenic fungi. *Comparative Biochemistry Physiology* 110:661-669.
- Shah, P.A., J.K. Pell, 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology and Biotechnology* 61:413-423.
- Spardo, D., M. L. Gullino, 2004. State of the art future prospects of biological control of postharvest fruit diseases. *International Journal of Food Microbiology* 91: 185-194.
- Starks, P., C.A. Blackie, T. Seeley, 2000. Fever in honeybee colonies. *Naturwissenschaften*. 87:229-231.
- St. Leger, R.J., L. Joshi, M. Bidochka, D.W. Roberts, 1996. Construction of an improved mycoinsecticide over expressing a toxic protease. *Proceedings of the National Academy Sciences USA* 93:6349-6354.
- Tanada, Y., H.K. Kaya, 1993. *Insect pathology*. Academic Press. San Diego, California (USA).
- Tang, H., Z. Kambris, B. Lemaitre, C. Hashimoto, 2006. Two proteases defining a melanization cascade in the immune system of *Drosophila*. *Journal of Biological Chemistry* 281:28097-28104.
- Tomoda, H., T. Doi, 2008. Discovery and combinatorial synthesis of fungal metabolites beauveriolides, novel antiatherosclerotic agents. *Accademic Chemistry Research* 41:32-9.
- Vilcinskis, A., P. Götz, 1999. Parasitic fungi and their interactions with the insect immune system. *Advances in Parasitology* 43:267-313.
- Vinson, S.B., 1991. Suppression of the insect immune system by parasitic Hymenoptera. In: Pathak, J.P.N. (Ed.), *Insect Immunity*. Dordrecht, Boston and London: Kluwer Academic Publishers. pp. 171-187.
- Wang, C., R.J. St. Leger, 2007. The MAD1 adhesion of *Metarhizium anisopliae* links adhesion with blastospore production and virulence to insects, and the MAD2 adhesin enables attachments to plants. *Eukaryotic Cell* 6:808-816.
- Wei-Zhen L., D.G. Boucias, C.W. McCoy, 1995. Extraction and characterization of the insecticidal toxin Hirsutellin A produced by *Hirsutella thompsonii* var. *thompsonii*. *Experimental Mycology* 19:254-262.
- Wilson, K., A.F. Reeson, 1998. Density-dependent prophylaxis: evidence from Lepidoptera- baculovirus interactions? *Ecological Entomology* 23:100-101.
- Wilson, K., M. Thomas, S. Blanford, M. Doggett, S. Simpson, S. Moore, 2002. Density-dependent disease resistance in desert locusts. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99:5471-5475.

