

# ***Hirsutella*, agente biocontrolador de ácaros e insectos de importancia agronómica**

***Hirsutella* as biological controller agent of mites and insects of agricultural importance**

Kevin Asdrúbal Quesada-Sojo<sup>1</sup>, William Rivera-Méndez<sup>2</sup>

---

*Fecha de recepción: 27 de marzo del 2015*  
*Fecha de aprobación: 6 de agosto del 2015*

Quesada-Sojo, K; Rivera-Méndez, W. *Hirsutella*, agente biocontrolador de ácaros e insectos de importancia agronómica. *Tecnología en Marcha*. Edición Especial Biocontrol. Pág 85-93.

---

1 Estudiante de Ingeniería en Biotecnología. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Tel. (506) 8407-9592, correo electrónico: kequesada@estudiantec.cr

2 Profesor. Ingeniero en Biotecnología. Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Tel. (506) 2550-9094, correo electrónico: wirivera@itcr.ac.cr



## Palabras clave

*Hirsutella*; biocontrolador; ITS; ácaros; insectos; hirsutellinas.

## Resumen

El manejo integrado de plagas constituye una solución integral a los procesos de producción agrícola, en especial cuando integran mecanismos biológicos ecoamigables. Las especies de hongos pertenecientes al género *Hirsutella* son capaces de infectar y parasitar gran variedad de invertebrados patógenos. Su desarrollo sobre el hospedero produce un micelio amarillento grisáceo con porcentajes bajos en formación de conidios. La caracterización morfogénica de *Hirsutella* se ha realizado utilizando regiones conservadas de ARNr denominadas ITS, lo que ha permitido develar homologías con géneros biocontroladores importantes como *Beauveria* o *Cordyceps*.

Las propiedades biocontroladoras del hongo actúan sobre diversas especies de ácaros e insectos que ocasionan enfermedades en cultivos de importancia agronómica. En ácaros se ha registrado la capacidad de colonizar y controlar especies como *Aceria guerreronis* (daños en frutos del cocotero), *Acalitus vaccinii* (ácaro del brote del arándano), *Tetranychus urticae* y *Calacarus heveae* (patógeno del árbol de caucho). En insectos, esa capacidad se ha demostrado en especies como *Diaphorina citri*, transmisor de la bacteria *Candidatus liberibacter*, *Homalodisca vitripennis*, transmisor de la bacteria fitopatogénica *Xylella fastidiosa*; y *Delphacodes kuscheli*, transmisor del virus Mal de Río Cuarto (MRCV). Se ha detectado que la patogenicidad de *Hirsutella* se debe a toxinas metabólicas complejas que se desarrollan durante la fase vegetativa, como lo son las hirsutellinas en *H. thompsonii*.

La revisión bibliográfica que se presenta en este artículo tiene como objetivo ilustrar los beneficios de utilizar hongos con potencial biocontrolador como *Hirsutella*, lo que constituye un mecanismo alternativo al uso de productos químicos para el control de plagas.

## Keywords

*Hirsutella*; biological control; its; mites; hirsutellines.

## Abstract

Integrated pest management is an integral solution to agricultural production processes, especially when it integrates eco-friendly biological mechanisms. Fungal species belonging to the genus *Hirsutella* are capable to infect and parasite a wide variety of invertebrates and pathogens. Its development on the host generates a grayish yellow mycelium with low percentages in formation of conidia. Morphogenetic characterization of *Hirsutella* been used conserved regions of rRNA called ITS allowing reveal homologies with significant biocontrol genres as *Beauveria* and *Cordyceps*.

It has been possible to detect that the pathogenicity of *Hirsutella* is due to complex metabolic toxins that developed during the vegetative stage as are Hirsutellin in *H. thompsonii*.

The biocontrol properties for the fungus act on various species of mites and insects that cause diseases in crops of agronomic importance. In Mites is registered the ability of *Hirsutella* to colonize and control species such as *Aceria guerreronis* (damage to coconut fruit), *Acalitus vaccinii* (blueberry bud mite), *Tetranychus urticae*, and *Calacarus heveae* (pathogen rubber tree). In insects that capacity has been demonstrated in species such as *Diaphorina citri*,

transmitter of the bacterium *Candidatus liberibacter*, *Homalodisca vitripennis*, transmitter of the phytopathogenic bacterium *Xylella fastidiosa* and *Delphacodes kuscheli* transmitter of Mal de Río Cuarto virus (MRCV). This literature review aimed to enlighten the reader the benefits of using fungi with biocontrol potential as *Hirsutella*, which is an alternative mechanism to the indiscriminate use of chemicals to control pests.

## Manejo integrado de plagas

El manejo integrado de plagas y enfermedades es una parte fundamental del proceso de producción agrícola en cualquier esquema económico que se presente, tanto en el de subsistencia variable como en la industria agrícola. Actualmente, los bioplaguicidas son una alternativa natural al combate de plagas y enfermedades a un costo razonable y sin causar efectos negativos sobre el usuario o el ambiente (CIA, 2010). El uso de microorganismos como los hongos entomopatógenos constituye una tendencia actual para el manejo de ácaros e insectos fitoparásitos. Existen varios géneros que parasitan ácaros, tales como *Hirsutella*, *Neozygetes* y *Entomophaga* (Zoebisch et al., 1993).

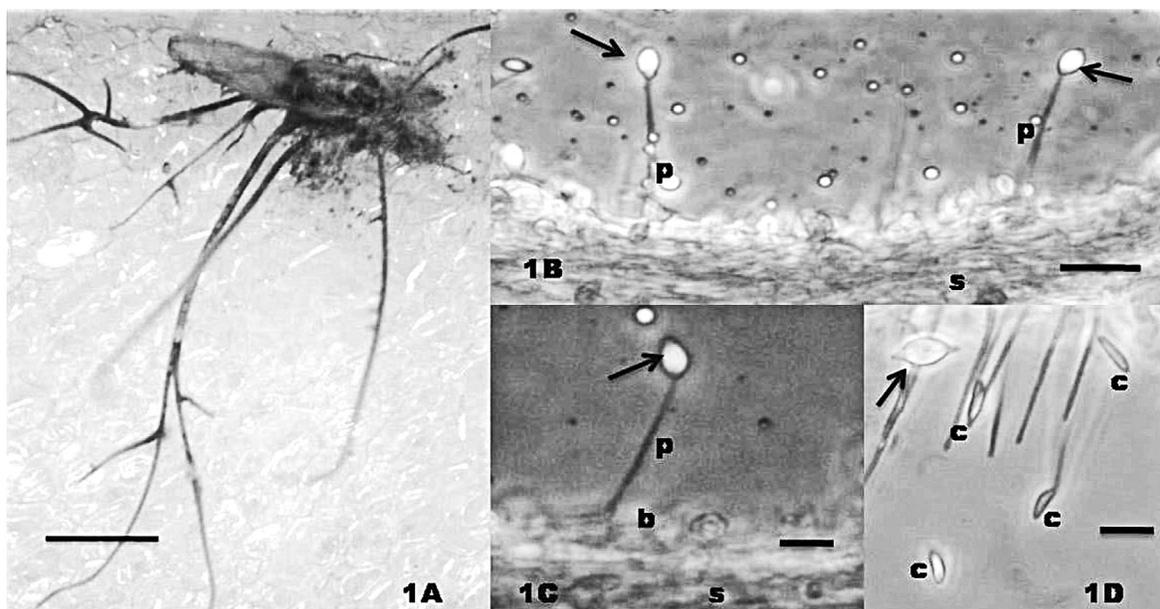
## Características del género *Hirsutella*

*Hirsutella* es uno de los hongos más abundantes y más importantes para el control de insectos plaga en el campo. Incluye aproximadamente 90 especies que son capaces de infectar y parasitar una gran variedad de invertebrados tales como ácaros, nemátodos e insectos, muchos de los cuales se consideran plagas importantes (Toledo et al., 2013).

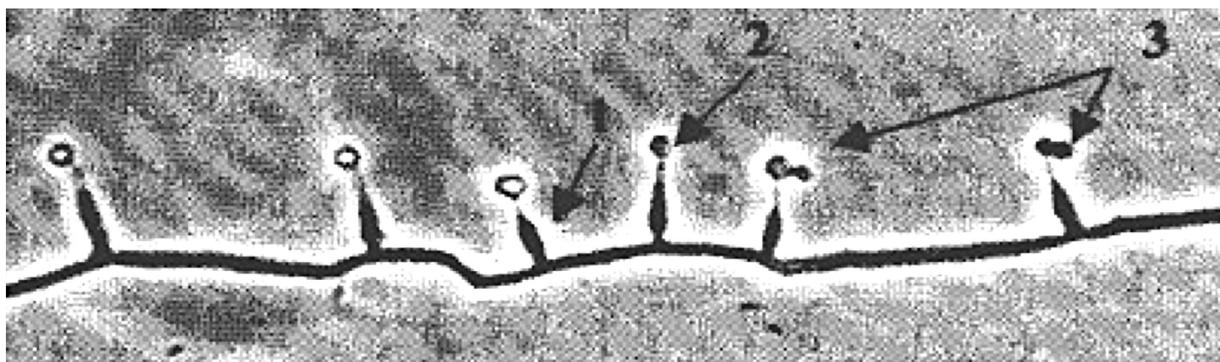
*H. thompsonii* fue descrita e ilustrada por Samson en 1980, quien propuso tres grupos o variedades con base en sus características morfológicas: *H. thompsonii* var. *thompsonii*, *H. thompsonii* var. *vinacea* y *H. thompsonii* var. *synnematosus* (Rosas, 2003). Minter y Brady dividieron este género en dos secciones: sinematógeno (*Synnematous*) y mononematógeno (*Mononematous*), basados en la presencia o ausencia de sinema. La mayoría de las especies de *Hirsutella* poseen sinema, además muchos miembros están catalogados como anamorfos o teleomorfos.

*Hirsutella* es un hongo de crecimiento lento, caracterizado por un bajo porcentaje de generación de conidios. En condiciones de laboratorio, su crecimiento radial es una variable y depende de factores como tipo de cepa, características genéticas, naturaleza del substrato en el que se desarrolla el hongo y las proporciones de C/N presentes en el mismo. El crecimiento sobre psílidos de *Diaphorina citri* se caracteriza por el cubrimiento del hongo sobre los adultos con un micelio amarillento grisáceo, con tonos lilas en especímenes frescos; en la base de los sinemas con frecuencia se generan protuberancias cónicas-cilíndricas similares a peritecios. Los sinemas se encuentran cubiertos por fiálides (células conidiógenas) no contiguas, con una base esférica ovalada de aproximadamente 5 µm de diámetro. Cada conidio está recubierto por una capa mucilaginosa de 8 µm de largo y 6 µm de ancho con forma ovoide que frecuentemente se disuelve en agua (figuras 1 y 2) (Sánchez et al., 2012).

Pérez y colaboradores (2015) determinaron que la temperatura de crecimiento óptima para *Hirsutella citriformis* es de 25 °C para un crecimiento radial aproximado de 0,083 cm diarios en medio PDA Sabouraud enriquecido (Sánchez et al., 2012). *Hirsutella thompsonii* forma colonias de forma afelpada, color gris o gris oliváceo y en ocasiones blanco; los conidios se producen de manera solitaria o en agrupaciones de dos o tres y presentan una morfología ovoide y verrugosa (figura 2) (Rosas, 2003).

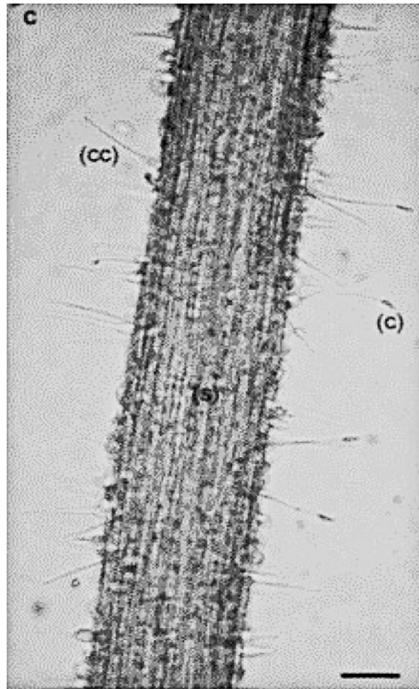


**Figura 1.** Morfología de *H. citrifomis*. A, sinema esporulado creciendo sobre *Bactericera cockerelli* 15 días después de haber sido inoculado. B-D, micrografías del hongo en PDA con extracto de levadura; en B se observan fiálides, formadas por un cuello (p) y una base (b), el conidio presenta una capa mucilaginosa alrededor, mientras que en (c) dicho material se encuentra ausente. Fuente: Sánchez et al. (2011).



**Figura 2.** Crecimiento en placa de cepa HtM120I de *Hirsutella thompsonii*. En la imagen es posible observar 1: fiálides, 2: conidios, 3: gotas de exudado. Fuente: Rosas (2003).

Toledo et al. (2013) determinaron que los conidios de esta especie forman una capa compacta sobre la superficie del sinema, surgiendo como células laterales emanadas de éste y llegando a distribuirse de manera intercalada a lo largo de las hebras miceliales (figura 3). Se caracterizan por ser monofialídicos, con una base elipsoidal estrecha a lo largo del esterigmata fialídico. Los conidios son de tipo hialino, sin septos, fusiformes o elípticos, solitarios y en algunas ocasiones dispuestos en pares. Cuando se cultivan in vitro, presentan tonalidades que van del blanco al marrón, con la presencia de exudados amarillentos y marrones. En cuanto a la composición química, la capa mucilaginosa externa de los conidios posee actividad enzimática relacionada con procesos de adhesión y tiene propiedades antisecantes y protectoras de los fenoles tóxicos del hospedero (Rosas, 2003).



**Figura 3.** Células conidiógenas (cc) y conidio de *Hirsutella* sp. (c) emanando como células laterales a lo largo de todo el sinema (s). Fuente: Toledo et al. (2013).

### Caracterización molecular y genética

Toledo et al. (2013) identificaron muestras de *Hirsutella* utilizando regiones conservadas de ARN ribosomal denominadas ITS (región transcrita interna). Sus análisis permitieron constatar un 87% de semejanza entre los géneros de *Hirsutella* y *Cordyceps* que, aunado al análisis de máxima parsimonia (figura 4), logró develar la homología existente de las muestras con *Beauveria*, conocido por ser un eficiente agente entomopatógeno en programas de manejo integrado de plagas (Toledo et al., 2013).

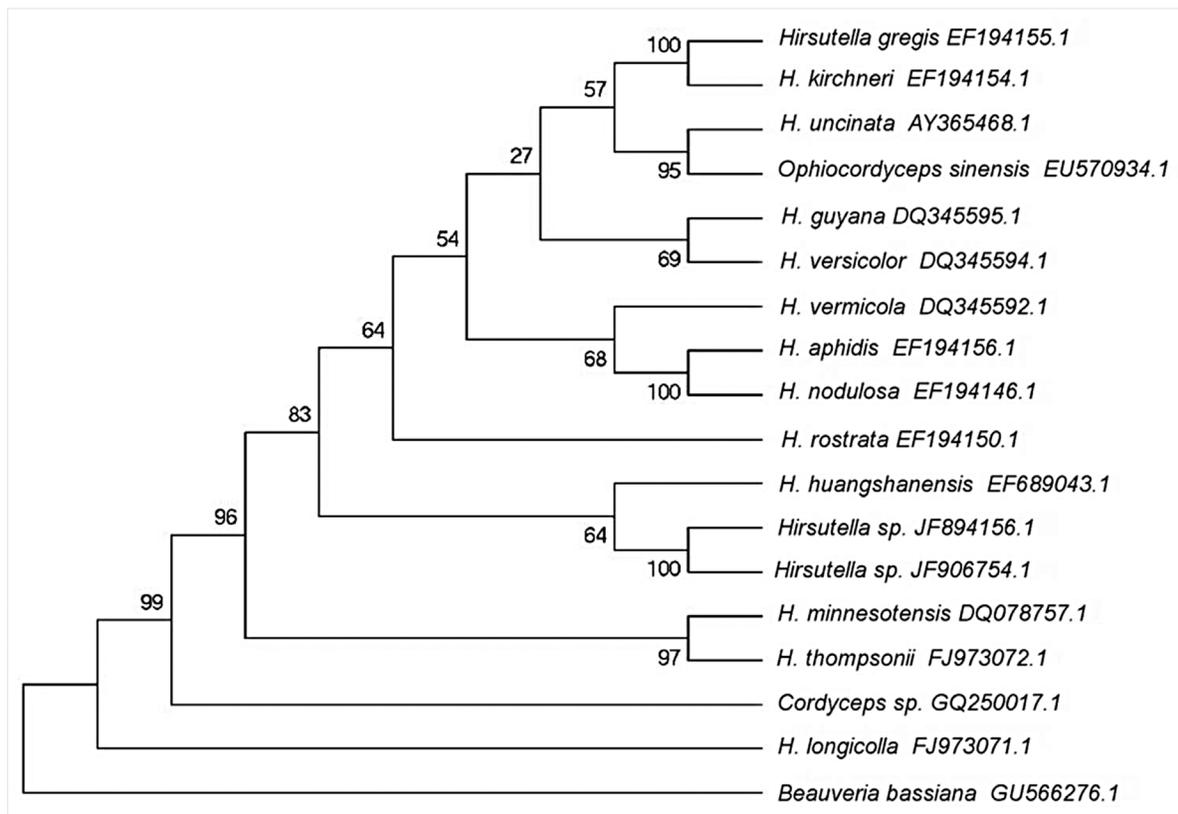
### Patogenicidad

Los hongos secretan una amplia variedad de metabolitos, algunos de importancia para la medicina y como herramientas en protocolos de investigación, como es el caso de la proteinasa K. Otros son altamente tóxicos (fumonisinas, ocratoxinas, patulin, zeralena) o carcinogénicos (moniliformin y aflatoxinas).

*Hirsutella* posee gran cantidad de toxinas, enzimas y compuestos aún no identificados asociados con la interrelación patógeno-hospedero, con potencial para el control biológico de los ácaros. Las toxinas hirsutellinas A y B (HtA y HtB) de *H. thompsonii* producidas durante la fase vegetativa así como otro tipo de metabolitos aún no detectados poseen en conjunto posibilidades de ser incluidos en los programas de control de plagas. Se ha reportado que diferentes productos metabólicos secretados por el desarrollo micelial de *Hirsutella* en caldos de cultivo con agitación han resultado tóxicos para larvas de *Galeria mellonella* y adultos de *Drosophila melanogaster* (Rosas, 2003).

Las toxinas se clasifican en dos grupos: compuestos de bajo peso molecular y moléculas proteómicas de alto peso molecular, ambos especializados en el control de insectos plagas. La caracterización de exudados producidos durante la etapa esporulativa de *Hirsutella* es

necesaria, para conocer la toxicidad contra artrópodos plaga (Rosas, 2003). La HtB aún no se encuentra totalmente caracterizada, a diferencia de la HtA, proteína extracelular residual de 130 aminoácidos perteneciente al género de las ribotoxinas (toxinas producidas como resultado de la actividad ribonucleótida) (Viegas et al., 2009). El phomalactona posee efectos tóxicos contra la larva de la palomilla de la manzana *Rhagoletis pomonella* y adultos de la mosca de la fruta del mediterráneo *Ceratitis capitata*. Además presenta actividad fungicida, dado que inhibe la germinación de los conidios de algunas especies de hongos como *Beauveria bassiana*, *Toypocladium* y *Metarhizium anisopliae*.



**Figura 4.** Árbol de máxima parsimonia que relaciona las secuencias ITS generadas a partir de muestras de campo de *Hirsutella* con sus géneros relacionados. El nombre de las especies viene dado por la accesión que brinda el GenBank. Se detalla la homología existente de las muestras de campo con géneros importantes de agentes biocontroladores como *Beauveria* y *Cordyceps*. Fuente: Toledo et al. (2013).

#### Ácaros e insectos de importancia agronómica sensibles al efecto biocontrolador de *Hirsutella*

Entre los procesos de producción masiva, *Hirsutella* muestra grados altos de patogenicidad sobre ácaros como *Aceria guerreronis* (figura 5), *Tetranychus urticae* y *Brevipalpus* sp., durante las etapas de conidiación.

Rosas (2003) destaca el potencial patogénico de *H. thompsonii* sobre ácaros de las siguientes familias: Eriophyidae, Tetranychidae, Tenuipalpidae, Tarsonimidae y Brevipalpidae, por lo que con sus tres variedades, este hongo se considera el más importante para la regulación natural de artrópodos plaga. *Hirsutella* ha sido aislado de diferentes ácaros hospederos en regiones tropicales y templadas.



**Figura 5.** *A. guerreronis* parasitado por *H. thompsonii* (560x). Fuente: Cabrera et al. (2008).

Asimismo, se ha observado el efecto de *Hirsutella* sobre ciertos grupos taxonómicos de insectos como Coleóptera, Lepidóptera, Hymenóptera y Díptera (Rosas et al., 2003).

El dragón amarillo (*huanglobing*) es una de las enfermedades más importantes de los árboles de cítricos en el mundo. Esta enfermedad es causada por la bacteria *Candidatus liberibacter*, que se transmite a partir de especímenes enfermos a sanos por medio del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri*. Además de los detalles mencionados en la sección de morfología y crecimiento de esta revisión, según los resultados obtenidos por Sánchez et al. (2012), las pruebas establecidas por Orquídea y su equipo de trabajo (2015) dieron a conocer tasas de mortalidad de 1,5 a 10,6% en psílicos adultos de *D. citri* inoculados con conidios de *H. citriformis*, después de 10 días de iniciado el ensayo.

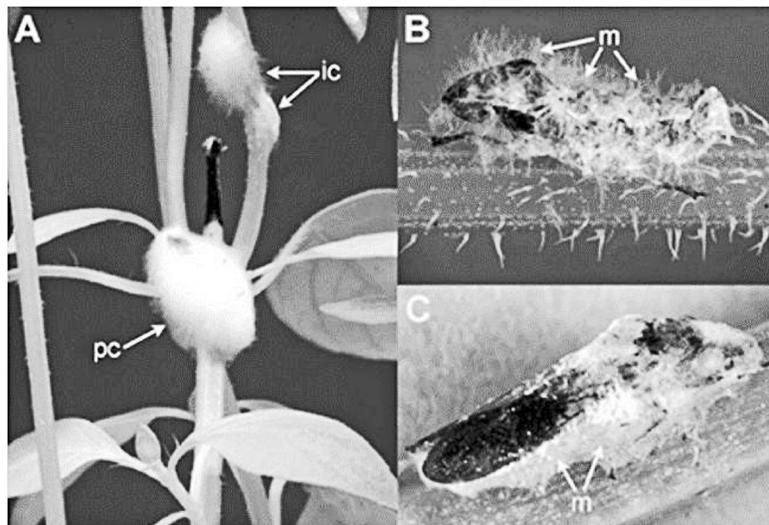
Es por ello que *H. citriformis* es uno de los pocos hongos reportados con posible uso potencial para el control de hemípteros, incluyendo a *D. citri*.

El género *Hirsutella* sp. ha sido descrito por Verena et al. (2011) como biocontrolador de las poblaciones de *Homalodisca vitripennis*, un hemíptero cicadélido, responsable de transmitir la bacteria fitopatogénica *Xylella fastidiosa*, a la cual infecta a través de los tejidos, causando síntomas como la quema de hojas y posterior defoliación. Es bien conocido que *X. fastidiosa* induce estrés osmótico en las plantas, además de ser capaz de secretar oligosacáridos que causan bloqueos xilemáticos. Como mecanismo de resistencia, produce enzimas degradadoras de paredes celulares vegetales que inhiben el bloqueo defensivo que estas generan por medio de sus láminas, compuestas por hemicelulosa y pectina (Beattie, 2011) (figura 6).

### Potencial a futuro

La actividad biológica de los exudados fúngicos se ha estudiado con gran detalle, así como el efecto de cada uno de ellos contra diversos tipos de artrópodos, especialmente aquellos derivados a partir del crecimiento de *Hirsutella*. Los esfuerzos actuales buscan descubrir la naturaleza de los materiales activos presentes en los exudados. Dependiendo de su identidad, las moléculas orgánicas pequeñas podrían llegar a utilizarse como modelo para la síntesis química, mientras que los péptidos o proteínas podrían mejorarse mediante la manipulación genética. Los estudios de alineamiento genético y filogenético realizados por Herrero et al. (2013) permitieron incluir la hirsutellina HtA en la familia de las ribotoxinas, que son un grupo de proteínas pertenecientes a la familia de las barnasas, las cuales comprenden pequeñas ribonucleasas de una sola cadena polipeptídica. Esta familia incluye otras ribotoxinas

importantes, tales como  $\alpha$ -sarcina, restrictocina y mitogilina, conocidas y estudiadas por ejercer efectos antitumorales en células malignas de cáncer de colon.



**Figura 6.** Cadáveres de *H. vitripennis* colonizados por *Hirsutella*. (A) Cadáver de ninfa (ic) y adulto (pc) sobre una hoja de albahaca de limón en estados avanzados de colonización. En (B) y (C) se aprecia el desarrollo de una capa fina y delgada de micelio sobre una ninfa y un adulto, respectivamente. Fuente: Verena et al. (2011).

Es por ello que a futuro se plantea llevar a cabo estudios que permitan ampliar el espectro de acción de HtA como una ribotoxina capaz no solo de actuar como compuesto insecticida sino también como un posible agente antitumoral en diversos tipos de cáncer. Es importante recalcar que la bibliografía actual documenta muy poco acerca de los principales efectos que las hirsutellinas, como compuestos derivados de *Hirsutella*, ocasionan sobre las plagas, especialmente de la HtB, por lo que es importante realizar investigaciones en el campo y de esa forma obtener mejores resultados en la comprensión de los mecanismos empleados por los hongos para controlar especies plagas.

## Conclusiones

*Hirsutella* es de los hongos con mayor potencial para controlar plagas que generan grandes pérdidas en el mundo. El entendimiento de aspectos como su metabolismo y crecimiento en ambientes naturales resulta clave para definir la mejor estrategia para su cultivo y posterior inoculación en el medio ambiente, asegurando así un antagonismo eficiente contra insectos y ácaros perjudiciales.

La información disponible con respecto a sus mecanismos de colonización y desarrollo en ácaros e insectos es abundante, más no suficiente para dar respuesta a todas las interrogantes que giran en torno a aspectos tan importantes como su metabolismo y genética reproductiva una vez presente en el hospedero. Es por tales razones que debe realizarse un mayor esfuerzo en la investigación de los efectos biocontroladores, no solamente en *Hirsutella*, *Cordyceps* o *Beauveria*, sino también en especies alternativas con potencial biocontrolador. El ser humano encuentra y seguirá encontrando en el control biológico una opción interesante y atractiva en ánimos de reducir las consecuencias negativas que genera contra la naturaleza y contra sí mismo, derivadas del abuso de productos químicos en la agricultura.

## Bibliografía

- Beattie, G. (2011). Water Relations in the Interaction of Foliar Bacterial Pathogens with Plants. *Annual Review of Phytopathology*, 49, 533-555.
- Cabrera, R., Cueto, J. & Otero, G. (2008). Los enemigos naturales de *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae) en Cuba y sus perspectivas para el manejo de la plaga. *Fitosanidad*, 12(2), 99-107.
- CIA (Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica). (2010). *Boletín: Biocontroladores*. San José: Universidad de Costa Rica.
- Herrero, E., García, L., Olombrada, M., Lacadena, J., Martínez, Á., Gavilanes, J. & Oñaderra, M. (2013). Hirsutellin A: A Paradigmatic Example of the Insecticidal Function of Fungal Ribotoxins. *Insects*, 4(3), 339-356.
- Pérez, O., Rodríguez, R., López, I., Sandoval, C. & Maldonado, M. (2015). Radial growth, sporulation, and virulence of Mexican isolates of *Hirsutella citriformis* against *Diaphorina citri*. *Southwestern Entomologist*, 40(1), 111-120.
- Rosas, J. (2003). *Actividad biológica de los exudados y filtrado crudo de Hirsutella thompsonii Fisher (CepaHtM120I) sobre Tetranychus urticae Koch y otros artrópodos*. Colima: Universidad de Colima, Área de Biotecnología.
- Sánchez, S., Casique, R., Bidochka, M., Reyes, A. & López, I. (2011). Pathogenicity of *Hirsutella citriformis* (Ascomycota: Cordycipitaceae) to *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) and *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). *Florida Entomologist*, 94(3), 703-705.
- Sánchez, S., Casique, R., Bidochka, M., Reyes, A., & López, I. (2012). *Hirsutella cirtriformis*: caracterización morfológica y molecular, y patogenicidad hacia psilloideos vectores. *Ponencias del 2° Simposio Nacional sobre Investigación para el Manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México*, (p. 356). Saltillo.
- Toledo, A., Simurro, M. & Balatti, P. (2013). Morphological and Molecular Characterization of a Fungus, *Hirsutella* sp., isolated from planthoppers and psocids in Argentina. *Journal of Science*, 13(18), 3, 5, 6.
- Verena, L., Mizell, R. & Boucias, D. (2011). Transmission of the Mycopathogen, *Hirsutella* spp. to Nymphs and Adults of the Glassy-Winged Sharpshooter, *Homalodisca vitripennis* (=Coagulata), in the Greenhouse. *Florida Entomologist*, 94(1), 106-108.
- Viegas, A., Herrero, E., Oñaderra, M., Macedo, A. & Bruix, M. (2009). Solution structure of hirsutellin A—new insights into the active site and interacting interfaces of ribotoxins. *The Febs Journal*, 276(8), 2381-2390.
- Zoebisch, T., Ochoa, R., Vargas, C. & Gamboa, A. (1993). Identificación y potencial del hongo *Hirsutella thompsonii* Fisher para el control de ácaros de importancia económica en América Central. *Manejo Integrado de Plagas*, 23, 9-12.