

Los baculovirus como bioinsecticidas: evaluación de un nucleopoliedrovirus para el combate de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) en México y Honduras

*Ana-Mabel Martínez,¹ Samuel Pineda,¹ J. Isaac Figueroa,¹
J. Manuel Chavarrieta¹ y Trevor Williams²*

¹Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, UMSNH; ²Instituto de Ecología A.C., Xalapa, Veracruz.

Resumen

Hasta ahora, los baculovirus han sido aislados únicamente de invertebrados, en su mayoría, de insectos. Se han descrito infecciones de baculovirus en más de 600 especies, principalmente del Orden Lepidoptera seguido de Hymenoptera, Diptera, Coleoptera y Trichoptera. Debido a que los baculovirus han demostrado su efectividad en el manejo de insectos plaga, hay excelentes revisiones que han descrito su biología y patogénesis. En la presente revisión se describen las características generales de los baculovirus, su uso como agentes de control y las aportaciones más importantes sobre la evaluación de un nucleopoliedrovirus como bioinsecticida para el control del gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae),

en México y Honduras.

Palabras clave: *Spodoptera frugiperda*, gusano cogollero, baculovirus, bioinsecticidas

Abstract

Baculoviruses have been reported from over 600 species of arthropods, especially from insects of the orders Lepidoptera and, to a lesser extent, Hymenoptera, Diptera, Coleoptera and Trichoptera. Since baculoviruses show a high potential in the management of insect pests, there have been numerous studies on their biology and pathogenesis. In the present review, the general characteristics of the baculoviruses, their use as control agents and specific studies focused on the evaluation of a nucleopolyhedrovirus as a bioinsecticide for the control of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), in Mexico and Honduras are presented.

Keywords: *Spodoptera frugiperda*, fall armyworm, baculoviruses, bioinsecticides

Descripción general de los baculovirus

La familia Baculoviridae es la más numerosa de todos los grupos de virus patógenos de insectos (Caballero *et al.*, 2009). Esta familia posee un estrecho rango de huéspedes y una elevada patogenicidad y virulencia (Hunter-Fujita *et al.*, 1998; Possee *et al.*, 2010). Los viriones de los baculovirus son de forma de varilla o bastón. El tamaño del genoma oscila entre 85 y 166 kilobases (kb) y está organizado en una molécula circular de ADN de doble cadena (van Oers, 2011). Los baculovirus producen dos tipos de partículas, una ocluida y otra no ocluida (Volkman, 2007). El virus ocluido comprende decenas de viriones en una matriz de proteína que forma una estructura poliédrica llamado cuerpo de inclusión (OBs, por sus siglas en inglés), que es la forma que es responsable de la transmisión horizontal de la infección. Cuando un huésped susceptible se alimenta de follaje contaminado con OBs, los viriones son liberados debido a que la proteína de los OBs se disuelve por el pH alcalino (8-11) que prevalece en el intestino del insecto (Figura 1). Los viriones derivados de los OBs infectan a las células epiteliales del intestino medio para iniciar el primer ciclo de replicación o infección primaria (Possee *et al.*, 2010). Alternativamente, algunas nucleocápsides atraviesan el citoplasma y, sin pasar por el núcleo, se dirigen a la zona basal. Las nucleocápsides atraviesan la membrana celular formando los viriones brotados (BVs) y pasan a la cavidad hemocélica a través de las traqueolas evitando la membrana basal (Caballero *et al.*, 2009). Estos viriones utilizan el sistema respiratorio de tráqueas como una red de caminos para dispersarse en el insecto (Engelhard *et al.*, 1994).

Las larvas de los lepidópteros que son infectadas por los baculovirus muestran signos visibles de la infección en un período de dos a cinco días después de la ingestión del virus (Tanada y Kaya, 1993). Estos signos incluyen un cambio gradual de color, reducción del apetito y cese de la alimentación. Previo a la muerte, la larva de muchos lepidópteros se desplazan a la parte aérea de las plantas donde mueren colgadas de sus propatas anales. Final-

mente, el integumento se degrada y se liberan millones de nuevos OBs para dar origen a un nuevo ciclo de infección (Fuxa 2004).

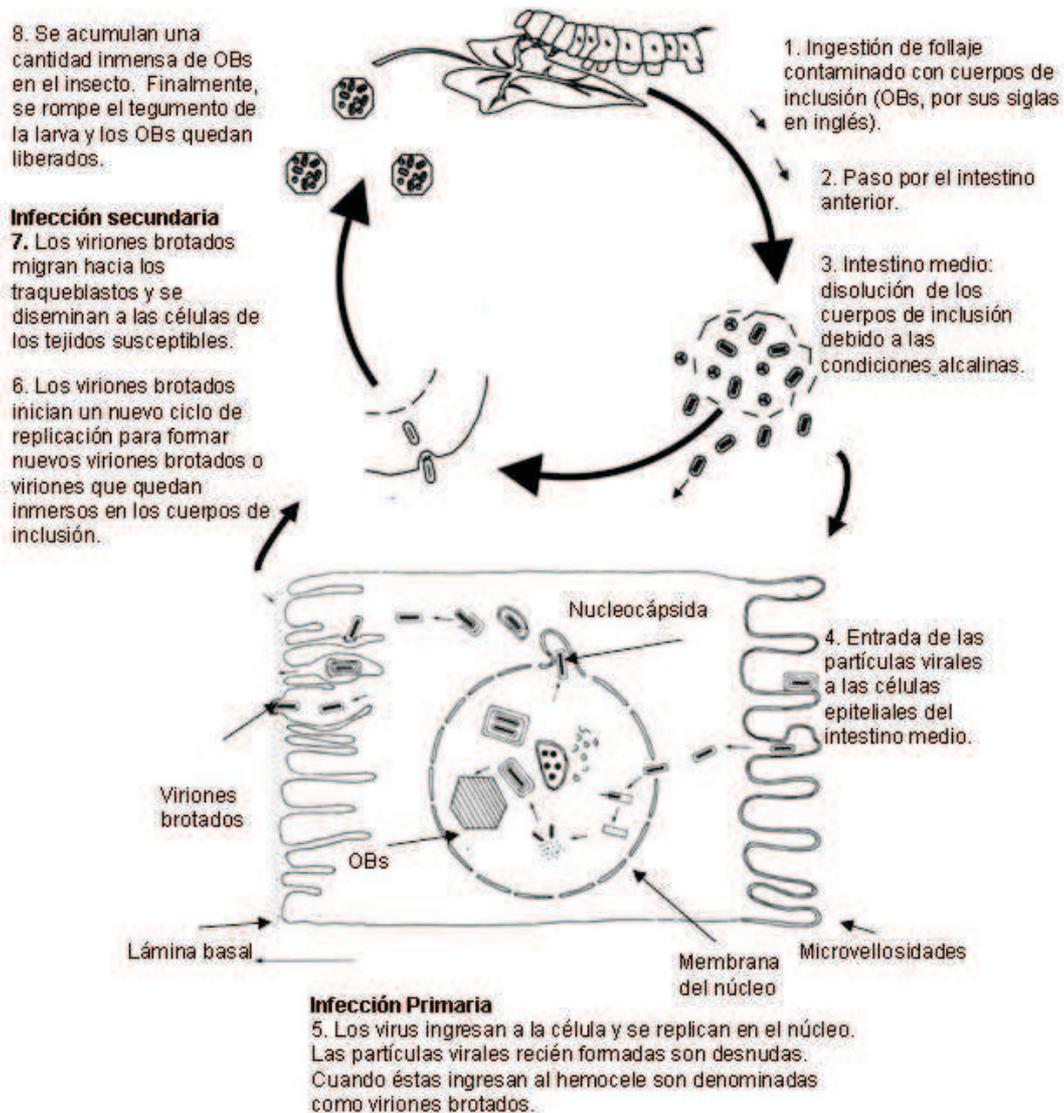


Figura 1. Esquematación del ciclo de infección de un nucleopoliedrovirus (adaptado de Hunter-Fujita *et al.*, 1998).

La taxonomía de los baculovirus ha sufrido varios cambios desde 1960 (Hunter-Fujita *et al.*, 1998). Actualmente, la familia Baculoviridae consta de cuatro géneros: *Alphabaculovirus*, que comprende los nucleopoliedrovirus específicos para lepidópteros (NPVs); *Betabaculovirus*, que comprende los granulovirus específicos para lepidópteros (GVs); *Gammabaculovirus*, que comprende los nucleopoliedrovirus específicos para himenópteros fitófagos; y *Deltabaculovirus*, que comprende los nucleopoliedrovirus específicos para dípteros (Jehle *et al.*, 2006).

En los NPVs se reconocen dos tipos morfológicos: aquellos que contienen una nucleocápside por virión, conocidos como de tipo simple (SNPVs) y aquellos que contienen varias nucleocápsides por virión, conocidos como de tipo múltiple (MNPVs) (Figura 2) (Federici, 1997; Caballero *et al.*, 2001; van Oers, 2011). El tamaño de los OBs varía de 1 a 5 μm de diámetro. Los viriones de los GVs son similares en su bioquímica y estructura a los de los NPVs, pero sus viriones están individualmente incluidos en pequeños OBs de ~ 150 nm de diámetro y 400-600 nm de longitud (Federici, 1997).

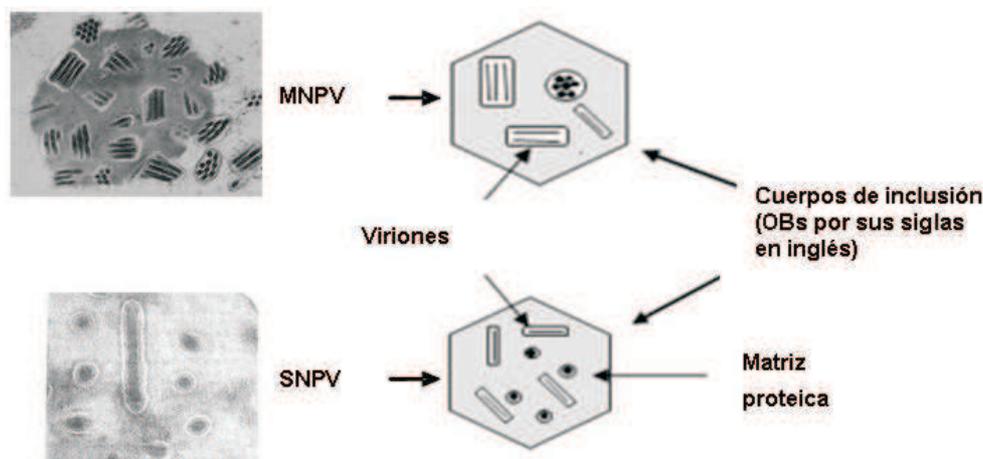


Figura 2. Esquematización de los tipos morfológicos de los nucleopoliedrovirus, simples (SNPV) y múltiples (MNPV) (adaptado de van Oers, 2011).

Los baculovirus como agentes de control de insectos plaga

Los primeros casos de control de insectos plaga con baculovirus se reportaron para las palomillas *Lymantria monacha* (L.) en Alemania y *Lymantria dispar* (L.) en Estados Unidos. En 1975, el primer insecticida viral fue comercializado con el nombre de Elcar™ (Sandoz Inc.) para el control del gusano elotero *Helicoverpa zea* (Boddie) (Szewczyk *et al.*, 2006). Caballero y Williams (2008) reportaron la existencia de 36 bioinsecticidas basados en baculovirus, como algunos de los ejemplos para controlar plagas agrícolas y forestales. En

Brasil, más de un millón de hectáreas de soja son tratadas cada año con el nucleopoliedrovirus del gusano terciopelo *Anticarsia gemmatalis* (Hübner), mismas que representan ~10% del total del área cultivada (Moscardi y Sosa-Gómez, 1992). Para el control de insectos plaga del género *Spodoptera*, existen varias formulaciones de NPVs que han sido empleadas en algunos países incluyendo Brasil, China, Guatemala, Tailandia, Holanda y Estados Unidos (Caballero y Williams, 2008).

El nucleopoliedrovirus múltiple de *Spodoptera frugiperda*

S. frugiperda (gusano cogollero) es una de las principales plagas del maíz en regiones tropicales y subtropicales de América (Vergara *et al.*, 2001), puede llegar a ocasionar pérdidas de la cosecha entre un 15 y 75% (Hruska y Gould, 1997). Este insecto se alimenta además de una amplia diversidad de plantas hospederas, entre las que se encuentran el sorgo, arroz, trigo, papa, soja y distintos cereales (Carrillo-Sánchez, 1993). Para el control de *S. frugiperda* los agricultores habitualmente realizan varias aplicaciones de insecticidas sintéticos (Andrews, 1988; Hruska y Gould, 1997). Los insecticidas más utilizados para el control de gusano cogollero son los organofosforados: paratión metílico, metamidofos y clorpirifos (McConnell y Hruska, 1993).

Las poblaciones naturales de *S. frugiperda* son afectadas por el SfMNPV y algunos aislamientos del patógeno han mostrado un claro potencial para el control de esta plaga (Escribano, 1999; Harrison *et al.*, 2008). Se han realizado diversos trabajos para validar el uso del SfMNPV como un agente de control en varios países de América (Mullock *et al.*, 1990; De Oliveira, 1998; Williams *et al.*, 1999). A continuación se describen algunos trabajos que fundamentan la posible aplicación de SfMNPV como un bioinsecticida en México y Honduras.

Evaluación de un nucleopoliedrovirus como bioinsecticida para el control *Spodoptera frugiperda*

Caracterización

Debido a que los aislados de virus pueden diferir en términos de su patogenicidad (capacidad del patógeno de provocar una enfermedad) y virulencia (grado de patogenicidad o daño fisiológico que el virus causa al huésped) (Tanada y Kaya, 1993), existen algunos aspectos importantes que se deben conocer para seleccionar algún aislado como bioinsecticida, entre ellos la composición genotípica y la actividad biológica (Barrera *et al.*, 2011). En este sentido, Escribano *et al.* (1999) determinaron que tres aislados del SfMNPV procedentes de Argentina, Nicaragua y Estados Unidos fueron estructural y genéticamente muy similares con base a un análisis de restricción enzimática; sin embargo, el aislado procedente de Nicaragua (Sf-NIC) (2.04×10^5 OBs/mL) fue 15 veces más patogénico comparado con el vi-

rus de Argentina (3.06×10^6 OBs/mL) con base a las concentraciones letales medias (CL_{50}) determinadas para cada virus. Debido a ello, dicho aislado fue seleccionado para evaluar su efectividad como bioinsecticida sobre cultivos de maíz (Williams *et al.*, 1999). En estudios recientes se determinó que una población natural del SfMNPV posee una amplia diversidad genómica (Simón *et al.*, 2004). En el aislado silvestre Sf-NIC se identificaron nueve genotipos diferentes. El genotipo completo fue caracterizado en términos de su mapa físico con las endonucleasas *EcoRI*, *HindIII*, *PstI* y *BamHI* (Simón *et al.*, 2005). De los otros genotipos clonados, tres se identificaron como "defectuosos" porque no causaron infección *per os*, mientras que el resto fueron significativamente menos infectivos comparados con el aislado silvestre después de ser ingeridos por larvas del segundo estadio de *S. frugiperda* (Simón *et al.*, 2004). De modo interesante, cuando se produjeron mezclas artificiales co-incluidos de dos de los genotipos, uno completo y el otro defectuoso, se observó que la mezcla restableció la patogenicidad a la del aislado silvestre (López-Ferber *et al.*, 2003).

Evaluación de la actividad del virus en condiciones de laboratorio y campo

Los experimentos en campo realizados en México y Honduras demostraron que la aplicación del SfMNPV a una concentración de 6×10^{12} OBs/hectárea de maíz provocó aproximadamente el 40% de mortalidad de *S. frugiperda* al ser aplicado en una formulación acuosa (Williams *et al.*, 1999). Al igual que otras especies de baculovirus, una de las grandes limitantes para lograr un mayor grado de control es la degradación de las partículas virales por la radiación ultravioleta y la ingestión del virus por el huésped (Williams y Cisneros, 2001). Debido a ello, en varias investigaciones se ha propuesto identificar sustancias que, incorporadas en los formulados de baculovirus, permitan incrementar su efectividad y persistencia en condiciones de campo, así como dar mayor fotoprotección.

Una de las más estudiadas son los abrillantadores ópticos, los cuales son productos químicos ampliamente utilizados en la elaboración de detergentes, plásticos y papel. Estos compuestos se caracterizan por absorber la luz ultravioleta (UV) y transmitirla como luz visible (Williams y Cisneros, 2001). Shapiro (1992) observó que 8 de 23 abrillantadores ópticos proporcionaron una completa protección al nucleopoliedrovirus de *L. dispar* en condiciones de laboratorio. Mondragón *et al.* (2007) evaluaron la fotoprotección del SfMNPV en mezclas con dos abrillantadores ópticos (Tinopal CBS y Tinopal C1101, derivados del distiril-bifenilo y ácido etenedil benceno-sulfónico, respectivamente) en condiciones de laboratorio. Los resultados mostraron que después de 240 min de exposición a una fuente de UV, el SfMNPV causó entre el 45 y 53% de mortalidad en larvas del tercer estadio de *S. frugiperda*, comparado con el virus sin el abrillantador, que fue inactivado después de 15 min de exposición a la luz UV.

Martínez *et al.* (2003) determinaron que la incorporación del abrillantador óptico Calcofluor M2R (derivado del estilbeno) al 0.1% (peso/vol) en la suspensión del SfMNPV tuvo un efecto potenciador de 2.7, 6.5 y 61.6 veces en larvas de segundo, tercero y cuarto estadio de *S. frugiperda*, respectivamente. Este abrillantador también mantuvo los valores de las

CL₅₀ en larvas del tercero y cuarto estadio similar al valor obtenido en larvas del segundo estadio. Estos resultados revelan que estos compuestos representan un valioso componente para el control de estadios que normalmente son más difíciles de controlar con los virus.

Sobre el modo de acción de los abrillantadores ópticos Wang y Granados (2000) determinaron que cuando larvas del falso medidor de la col *Trichoplusia ni* Hübner consumieron Calcofluor M2R, éste provocó perturbaciones en la membrana peritrófica (MP) del insecto (membrana de quitina y proteínas que impide que los alimentos entren en contacto directo con las células epiteliales del insecto). El abrillantador se une a la quitina y produce la liberación de las proteínas de la MP. Esto provoca un incremento en la porosidad de la membrana y una mayor probabilidad de contacto entre los viriones y las células epiteliales del intestino medio (Wang y Granados, 2000).

El uso de sustancias que pueden mejorar los formulados de los baculovirus señalan que los fagoestimulantes incrementan la eficacia, estabilidad y manejo del patógeno en campo (Tamez-Guerra *et al.*, 2000; Williams y Cisneros, 2001). Al respecto, experimentos en campo demostraron que la incorporación del SfMNPV en formulaciones granulares, elaboradas con harina de maíz, fécula de maíz, aceite comestible y agua, incrementó significativamente la prevalencia de la infección en larvas de *S. frugiperda* y la persistencia del inóculo en campo (Castillejos *et al.*, 2002).

En la literatura se mencionan una serie de compuestos empleados en productos formulados de baculovirus incluyendo surfactantes (Tween 20, Triton X-100, AgralPlus), espesantes (goma Xanthan, carboximetil celulosa), ligantes (gelatina, aceite de parafina), estimulantes alimenticios (productos de cereales, azúcares), protectores solares (Williams y Cisneros, 2001), ácido bórico (Cisneros *et al.*, 2002). En general, el uso de sustancias fagoestimulantes, y aquellas que incrementan la eficiencia, parecen ser elementos clave para mejorar los formulados del SfMNPV en campo. Sin embargo, para que esta tecnología pueda ser adoptada por los productores es necesario la realización de estudios que permitan evaluar su impacto en el ambiente y las características para su posible comercialización.

Interacción con otros enemigos naturales

En el sureste de México, el parasitismo típicamente contribuye con un 15 y 20% de la mortalidad de larvas de *S. frugiperda* después de una aplicación del SfMNPV (Martínez *et al.*, 2000). Es ampliamente conocido que en los sistemas hospedero-parasitoide-patógeno puede ocurrir una infección simultánea entre los parasitoides y los baculovirus. Estudios de laboratorio mostraron que el endoparasitoide solitario de larva, *Campoletis sonorensis* (Cameron), no fue capaz de sobrevivir en larvas de *S. frugiperda* que ingirieron una dosis letal del SfMNPV inmediatamente después de ser parasitadas, mientras que la sobrevivencia sí fue posible cuando las larvas del hospedero fueron parasitadas después de dos días de la infección viral (Escribano, 1999). La susceptibilidad de *S. frugiperda* al SfMNPV no difirió entre larvas parasitadas y no parasitadas por *C. sonorensis*, pero la producción de OBs del virus se redujo ~50% en larvas del cuarto estadio (Escribano *et al.*, 2000).

Con respecto a la interacción de los baculovirus con los depredadores se conoce que varias especies de insectos pueden actuar como agentes dispersantes, ya que pueden diseminar el virus a través de sus heces después de haber consumido presas infectadas (Vasconcelos *et al.*, 1996) y/o por contacto físico del insecto con el virus (Sait *et al.*, 1996). Un estudio de laboratorio con los depredadores *Doru taeniatum* Dohrn y *Chrysoperla rufilabris* Burmeister concluyó que *D. taeniatum* puede excretar el virus viable durante los tres días después de haber consumido larvas de *S. frugiperda* infectadas con el SfMNPV, mientras que el virus consumido por larvas de *C. rufilabris* se inactivó en el intestino (Castillejos *et al.*, 2001). Los autores señalan que debido a que el intestino de ambos depredadores poseen una condición ácida, estas diferencias pueden estar relacionadas con la no expulsión del virus en el meconio y/o la presencia de proteasas en el intestino que pueden inactivar el virus. En condiciones de campo se comprobó que *D. taeniatum* tiene la habilidad de dispersar el SfMNPV sobre plantas de maíz y puede contribuir con la transmisión de la enfermedad en larvas de *S. frugiperda* (Castillejos *et al.*, 2001).

Otros estudios

Las infecciones causadas por los baculovirus son en general altamente virulentas y provocan la mortalidad del hospedero (Cory *et al.*, 1997; Hughes *et al.*, 1997). Sin embargo, varios estudios demuestran que los baculovirus también pueden persistir en un bajo nivel en el hospedero sin causar signos de una enfermedad patente (Hughes *et al.*, 1997; Burden *et al.*, 2003; Cabodevilla *et al.*, 2011). Estas infecciones no son letales pero frecuentemente provocan efectos adversos en la tasa de desarrollo y reproducción del insecto infectado subletalmente (Cabodevilla *et al.*, 2011). Además, las infecciones persistentes permiten al patógeno transmitirse de forma vertical, es decir de los padres a su progenie (Kukan, 1999).

Martínez *et al.* (2005) evaluaron la prevalencia de infecciones subletales en diferentes estados del desarrollo de *S. frugiperda* mediante la técnica molecular de la transcripción reversa acoplada a la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). La detección de infecciones subletales varió entre el 5 y 41% dependiendo del estado de desarrollo del insecto y del gen utilizado para la detección de la transcripción de los genes del virus. El intervalo de tiempo que transcurrió desde la inoculación y la probabilidad de detectar la infección subletal se correlacionó negativamente, lo cual sugiere que los insectos pueden librarse de la infección durante su desarrollo. Sin embargo, después de 11 generaciones de exposición del SfMNPV, los insectos sobrevivientes mostraron efectos adversos en la tasa de desarrollo de estados inmaduros y en la tasa reproductiva de los adultos de *S. frugiperda* (Martínez *et al.*, 2003). Lo anterior sugiere que en el caso del SfMNPV, los efectos subletales son debido principalmente al costo de la utilización de las reservas energéticas del huésped para resistir y combatir al patógeno. Estos efectos son importantes desde el punto de vista práctico, ya que la descendencia del insecto plaga puede disminuir y, como consecuencia, tener un impacto negativo en la dinámica de población del insecto.

Hasta la fecha, la producción de baculovirus con fines comerciales se realiza mediante el sistema *in vivo*, es decir, la multiplicación del virus en el huésped. Mediante este sistema

se logra obtener una elevada producción del virus y un producto de alta calidad (Cory y Bishop, 1997). De acuerdo a una estimación realizada por Williams *et al.* (1999), sin incluir gastos comerciales (mercado, distribución, gastos generales), el costo para producir 1.5×10^{12} OBs del SfMNPV en condiciones de laboratorio en México fue de \$12.10 dólares. Del costo total, el mayor porcentaje correspondió a las actividades de mano de obra (68.2%), seguido del costo para la elaboración de la dieta artificial para alimentar a las larvas huésped (17.5%). Cuando el virus es incorporado a un formulado granular fagoestimulante, el costo de producción se puede incrementar en \$17 dólares. Sin embargo, comparado con el costo de un insecticida químico granular (~ \$13.50 dólares/ha), se espera que un formulado granular del SfMNPV sea más competitivo al reducir los costos por el incremento de la escala de producción (Castillejos *et al.*, 2002).

Conclusiones

Son varias las aportaciones derivadas de los estudios señalados en la presente revisión. Sin embargo, el grado de control de las larvas de *S. frugiperda* parece estar limitado por la persistencia de los OBs sobre la superficie del cultivo y la eficiencia del proceso de la adquisición de la infección. Entre los temas importantes para futuros estudios está la evaluación de diferentes compuestos naturales y sintéticos como protectores solares y/o fagoestimulantes.

Los abrillantadores ópticos representan un valioso componente para las formulaciones de los nucleopoliedrovirus y su uso podría ser más factible a través de la identificación de compuestos económicamente accesibles y que incrementen la capacidad insecticida del SfMNPV a bajas concentraciones. Además, para confirmar el potencial de los abrillantadores ópticos como coadyuvantes en los bioinsecticidas es necesario realizar estudios minuciosos en condiciones de campo (Tamez-Guerra *et al.*, 2006).

El uso de formulaciones fagoestimulantes granulares elaboradas con harina de maíz también representan una opción para el uso del SfMNPV, ya que tienen la ventaja de ser persistentes en el campo, sencillos de preparar y fáciles de aplicar (Williams y Cisneros, 2001). El uso alternado de estos compuestos en el contexto de un apropiado manejo integrado de plagas, podría minimizar el costo de estrategias de control de plagas basadas en baculovirus.

Se ha demostrado que el uso del SfMNPV puede ser compatible con la acción de otros enemigos naturales e incluso con algunos otros insecticidas. La mayoría de las aplicaciones de insecticidas químicos en el cultivo de maíz tiene como objetivo el control del gusano cogollero, por lo tanto éste tipo de estrategias podría reducir el número de aplicaciones de los insecticidas químicos por ciclo de cultivo.

Agradecimientos

Ana-Mabel Martínez agradece el apoyo al Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP/SEP-PTC-110) y a la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (Proyecto 6.7).

Literatura citada

- Andrews, K.L. 1988. Latin America research on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Florida Entomologist 71: 630-653.
- Barrera, G., O. Simón, L. Villamizar, T. Williams y P. Caballero. 2011. *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus as a potential biological insecticide: genetic and phenotypic comparison of field isolates from Colombia. Biological Control 58: 113-120.
- Burden, J.P., C.P. Nixon, A.E. Hudgkinson, R.D. Possee, S.M. Sait, L.A. King y H.S. Halis. 2003. Covert infections as a mechanism for long-term persistence of baculoviruses. Ecology Letters 6: 524-531.
- Caballero, P., M. López-Ferber y T. Williams. 2001. Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. Phytoma. S. A., Valencia, España.
- Caballero, P., R. Murillo, D. Muñoz y T. Williams. 2009. El nucleopoliedrovirus de *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) como bioplaguicida: un análisis de avances recientes en España. Revista Colombiana de Entomología 35: 105-115.
- Caballero, P. y T. Williams. 2008. Virus Entomopatógenos. En: J.A. Jacas y A. Urbaneja (eds.), Control Biológico de Plagas Agrícolas, pp. 121-136. Fascículo número 04, Phytoma, España.
- Cabodevilla, O., E. Villar, C. Virto, R. Murillo T. Williams y P. Caballero. 2011. Intra- and intergenerational persistence of an insect nucleopolyhedrovirus: adverse effects of sublethal disease on host development, reproduction and susceptibility to super infection. Applied and Environmental Microbiology 77: 2954-2960.
- Carrillo-Sánchez, J.L. 1993. Síntesis del control biológico de *Heliothis spp.* y *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) en México. Folia Entomológica Mexicana 87: 85-93.
- Castillejos, V., L. García, J. Cisneros, D. Goulson, R.D. Cave, P. Caballero y T. Williams. 2001. The potencial of *Chrysoperla rufilabris* and *Doru taeniatum* as agent for despersal of *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus in maize. Entomologia Experimentalis et Applicata 98: 353-359.
- Castillejos, V., J. Trujillo, L.D. Ortega, J.A. Santizo, J. Cisneros, D.I. Penagos, J. Valle y T. Williams. 2002. Granular phagostimulant nucleopolyhedrovirus formulations for control of *Spodoptera frugiperda* in maize. Biological Control 24: 300-310.

- Cisneros, J., J.A. Pérez, D.I. Penagos, J. Ruiz, D. Goulson, P. Caballero, R.D. Cave y T. Williams. 2002. Formulation of a nucleopolyhedrovirus with boric acid for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. *Biological Control* 23: 87-95.
- Cory, J.S. y D.G.L. Bishop. 1997. Use the baculoviruses as biological insecticides. *Molecular Biotechnology* 7: 303-313.
- Cory, J.S., R.S. Hails y S.M. Sait. 1997. Baculovirus ecology. En: L.K. Miller (ed.), *The Baculoviruses*, pp. 301-339. Plenum Press, Nueva York.
- De Oliveira, M.R. 1998. World Survey: South America. P. 239-235. En: *Insect viruses and pest management*. (Hunter-Fujita, F.R., P.F. Entwistle, H.F. Evans y N.E. Crook, Eds.) Wiley, Chichester, Reino Unido.
- Engelhard, E.K., L.N.W. Kam-Morgan, J.O. Washburn y L.E. Volkamn. 1994. The insect tracheal system: a conduit for the systemic spread of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 91: 3224-3227.
- Escribano, A. 1999. Nucleopolyhedrovirus and parasitoids interactions in *Spodoptera frugiperda* larvae. Tesis doctoral, Universidad Pública de Navarra. España.
- Escribano, A., T. Williams, D. Goulson, R.D. Cave, J.W. Chapman y P. Caballero. 1999. Selection of a nucleopolyhedrovirus for control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): structural, genetic, and biological comparison of four isolates from the Americas. *Journal of Economic Entomology* 92: 1079-1085.
- Escribano, A., T. Williams, D. Goulson, R.D. Cave, J.W. Chapman y P. Caballero. 2000. Effect of parasitism on a nucleopolyhedrovirus amplified in *Spodoptera frugiperda* larvae parasitized by *Campoletis sonorensis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 97: 257-264.
- Federici, B.A. 1997. Baculovirus pathogenesis. P. 33-59. En: *The Baculoviruses* (L.K. Miller, Ed.) Plenum Press, Nueva York.
- Fuxa, J.R. 2004. Ecology of insect nucleopolyhedroviruses. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 103: 27-43.
- Harrison, R.L., B. Putter y H. J. R. Popham. 2008. Genomic sequence analysis of a fast killing isolate of *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus. *Journal of General Virology* 89: 775-790.
- Hruska, A.J. y F. Gould. 1997. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea lineolata* (Lepidoptera: Pyralidae): impact of larval population level and temporal occurrence on maize yield in Nicaragua. *Journal of Economic Entomology* 90: 611-622.
- Hughes, D.S., R.D. Possee y L.A. King. 1997. Evidence for the presence of a low-level, persistent baculovirus infection of *Mamestra brassicae* insects. *Journal of General Virology* 197: 1801-1805.
- Hunter-Fujita, F.R., P.F. Entwistle, H.F. Evans y N.E. Crook. 1998. *Insect viruses and pest management*. Wiley, Chichester, Reino Unido.

- Jehle, J.A., G.W. Blissard, B.C. Bonning, J.S. Cory, E.A. Herniou, G.F. Rohrmann, D.A. Theilmann, S.M. Thiem y J.M. Vlaskovits. 2006. On the classification and nomenclature of baculoviruses: a proposal for revision. *Archives of Virology* 151: 1257-1266.
- Kukan, B. 1999. Vertical transmission of nucleopolyhedrovirus in insects. *Journal of Invertebrate Pathology* 74: 103-111.
- López-Ferber, M., O. Simón, T. Williams y P. Caballero. 2003. Defective or effective? Mutualistic interactions between virus genotypes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270: 2249-2255.
- Martínez, A.M., D. Goulson, J.W. Chapman, P. Caballero, R.D. Cave y T. Williams. 2000. Is it feasible to use optical brightener technology with a baculovirus insecticide for resource-poor maize farmers in Mesoamerica? *Biological Control* 17: 174-181.
- Martínez, A.M., O. Simón, T. Williams y P. Caballero. 2003. Effect of optical brighteners on the insecticidal activity of a nucleopolyhedrovirus in three instars of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 109: 139-146.
- Martínez, A.M., T. Williams, M. López-Ferber y P. Caballero. 2005. Optical brighteners do not influence covert baculovirus infection of *Spodoptera frugiperda*. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 1668-1670.
- McConnell, R. y A. Hruska. 1993. An epidemic of pesticide poisoning in Nicaragua: implications for prevention in developing countries. *American Journal of Public Health* 83: 1559-1562.
- Mondragón, G., S. Pineda, A. Martínez y A.M. Martínez. 2007. Optical brightener Tinopal C1101 as an ultraviolet protectant for a nucleopolyhedrovirus. *Communications in Agricultural and Biological Science* 72: 243-247.
- Moscardi, F. y D.R. Sosa-Gómez. 1992. Use of viruses against soybean caterpillars in Brazil. P. 98-109. En: *Pest management in soybean* (L.C. Copping, M.B. Green y R.T. Rees, Eds.) Elsevier, Londres.
- Mullock, B.S., S.S. Swezey, C. Narvaez, P. Castillo y C.M. Rizo. 1990. Development of baculoviruses as a contribution to biological control of lepidopterous pests of basic grains in Nicaragua. *Proc. XXIII Int. Conf. Soc. Invertebr. Pathol. Adelaide, Australia*, 20-24 de agosto.
- Possee, R. D., C. M. Griffiths, R. B. Hichman, A. Chambers, F. Murguía-Meca, J. Danquah, A. Jeshtadi y A. King. 2010. Baculoviruses: biology, replication, and exploitation. En: *Insect virology*, pp. 35-57. Caister Academic Press, Norfolk, Reino Unido.
- Sait, S. M., M. Begon, D. J. Thompson y J. A. Harvey. 1996. Parasitism of baculovirus-infected *Plodia interpunctella* by *Venturia canenses* and subsequent virus transmission. *Functional Ecology* 10: 586-591.

- Shapiro, M. 1992. Use of optical brighteners as radiation protectants for gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) nuclear polyhedrosis virus. *Journal of Economic Entomology* 85: 1682-1686.
- Simón, O., T. Williams, M. López-Ferber y P. Caballero. 2004. Genetic structure of a *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus population: high prevalence of deletion genotypes. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 5579-5588.
- Simón, O., F. Chevenet, T. Williams, P. Caballero y M. López-Ferber. 2005. Physical and partial genetic map of *Spodoptera frugiperda* nucleopolyhedrovirus (SfMNPV) genome. *Virus Genes* 30: 403-417.
- Szewezyk, B., L. Hoyos-Carvajal, M. Paluszek, W. Skrzecz y M.L. de Souza. 2006. Baculoviruses re-emerging biopesticides. *Biotechnology Advances* 24: 143-160.
- Tamez-Guerra, P., M.R. McGuire, R.W. Behle, J.J. Hamm, H.R. Sumnern y B.S. Shasha. 2000. Sunlight persistence and rainfastness of spray-died formulations of baculoviruses isolated from *Anagrapha falcifera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 93: 210-218.
- Tamez-Guerra, P., V. Zamudio, J.L. Martínez-Carrillo, C. Rodríguez-Padilla, R.S. Tamez-Guerra, R. Gómez-Flores. 2006. Formulaciones granulares de baculovirus en combinación con abrillantadores ópticos para su empleo como bioinsecticida. *Ciencia UANL* 9: 149-156.
- Tanada, Y. y H.K. Kaya. 1993. *Insect pathology*. Academic Press, San Diego, CA.
- van Oers, M. M. 2011. Opportunities and challenges for the baculovirus expression system. *Journal of Invertebrate Pathology* 107: 3-15.
- Vasconcelos, S. D. 1996. Alternative routes for the horizontal transmission of a nucleopolyhedrovirus. *Journal of Invertebrate Pathology* 68: 269-274.
- Vergara O., Pitre, H. y Parvin, D. 2001. Economic evaluation of lepidopterous pests in intercropped sorghum and maize in southern Honduras. *Tropical Agriculture* 78: 190-199.
- Volkman, L.E. 2007. Baculovirus infectivity and the actin cytoskeleton. *Current Drug Targets* 8: 1075-1083.
- Wang, P. y R.R. Granados. 2000. Calcofluor disrupts the midgut defense system in insects. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 30: 135-143.
- Williams, T. y J. Cisneros. 2001. Formulación y aplicación de los baculovirus bioinsecticidas. En: Caballero, P., M. López-Ferber y T. Williams (eds.), *Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas*, pp. 313-372. Phytoma S. A., Valencia, España.
- Williams, T., D. Goulson, P. Caballero, J. Cisneros, A.M. Martínez, J.W. Chapman, D.X. Roman y R.D. Cave. 1999. Evaluation of a baculovirus bioinsecticide for small-scale maize growers in Latin America. *Biological Control* 14: 67-75.